



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**EVOLUÇÃO DAS MUTAÇÕES ASSOCIADAS A RESISTÊNCIA
NA INFEÇÃO POR VIH-2 EM PORTUGAL**

Trabalho submetido por
Joana Filipa da Silva Lopes
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

outubro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**EVOLUÇÃO DAS MUTAÇÕES ASSOCIADAS A RESISTÊNCIA
NA INFEÇÃO POR VIH-2 EM PORTUGAL**

Trabalho submetido por
Joana Filipa da Silva Lopes
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professora Doutora Perpétua Gomes

outubro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**EVOLUÇÃO DAS MUTAÇÕES ASSOCIADAS A RESISTÊNCIA
NA INFEÇÃO POR VIH-2 EM PORTUGAL**

Trabalho submetido por
Joana Filipa da Silva Lopes
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professora Doutora Perpétua Gomes

e coorientado por
Doutora Marta Pingarilho

outubro de 2020

Agradecimentos

Deixo o meu reconhecimento a todos que contribuíram para a concretização deste trabalho:

À Professora Doutora Perpétua Gomes, por ter despertado em mim o interesse para este tema, por toda a ajuda, espírito crítico, orientação e disponibilidade demonstrada.

À Doutora Marta Pingarilho, por ter aceite coorientar este trabalho e por todos os ensinamentos comigo partilhados, pela dedicação e toda a ajuda.

A todos os profissionais do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular do HEM, por me terem recebido tão bem e estarem sempre disponíveis para me ajudar, em especial à técnica Fátima Gonçalves pois sem o seu trabalho no VIH-2 a realização deste estudo não teria sido possível.

A toda a equipa do IHMT por me ter deixado fazer parte do projeto e me ter proporcionado aprendizagens que sem tal experiência não teriam sido possíveis.

À Mestre Mafalda Miranda cuja ajuda no tratamento dos dados foi preciosa.

Aos meus pais, por todo o apoio e pelo esforço para que a realização deste curso fosse possível.

À minha irmã, que sempre me aturou e apoiou, apesar de todas as queixas que ouviu ao longo destes cinco anos.

Ao meu namorado, por todo o apoio, por ter estado sempre a meu lado e ter acreditado sempre em mim e que seria capaz de concluir esta aventura, por toda a força que me deu para seguir em frente e atingir a meta.

A todos os professores do IUEM, sem os quais a obtenção deste grau não seria possível.

Resumo

O VIH-2 foi identificado em 1986, como o segundo agente causador de SIDA, sendo endémico na África Ocidental. No entanto, casos de infeção por VIH-2 estão também presentes em países europeus, como em Portugal onde a taxa de infeção é de 3,3%.

O objetivo deste trabalho foi analisar e descrever a evolução da resistência transmitida e adquirida aos antirretrovirais, utilizados no tratamento da infeção por VIH-2, entre 1996 e 2019, em Portugal.

A população analisada incluiu 2083 indivíduos infetados por VIH-2, dos quais 302 eram indivíduos não-tratados e 228 eram tratados com antirretrovirais na altura da realização do teste de resistência, não se conhecendo história de tratamento para 1553 indivíduos.

Os indivíduos não-tratados eram maioritariamente mulheres (59,3%) com uma mediana da idade à data do teste de resistência de 51 anos, enquanto que os indivíduos tratados eram na sua maioria homens (53,1%) com uma mediana da idade de 49 anos à data do teste de resistência. Em ambos os grupos, verificou-se que a maioria dos indivíduos era originária do continente africano, principalmente da Guiné-Bissau (23,5% nos não-tratados e 23,2% nos tratados). No que respeita ao grupo de infeção, observou-se que todos os casos pertenciam ao grupo A do VIH-2.

Relativamente à TDR (Resistência Transmitida aos Antirretrovirais) verificou-se uma prevalência global igual a 4,0% e a ADR (Resistência Adquirida aos Antirretrovirais) apresentou uma prevalência global de 67,1%. Entre 2007 e 2019 a TDR apresentou um aumento ao longo do tempo (4,8% a 5,3%), o que se verificou-se também para os NRTI (4,8% a 5,3%). A ADR aumentou também entre 2007 (64,7%) e 2019 (83,3%), sobretudo no caso dos NRTI (64,7% a 83,3%), mas também para os PI (35,3% a 50,0%).

Globalmente verificou-se que a TDR e a ADR aumentaram ao longo do tempo (2007-2019).

Palavras-Chave: VIH-2; Resistência Adquirida aos Antirretrovirais; Resistência Transmitida aos Antirretrovirais; Portugal

Abstract

The HIV-2 was identified as the second agent of AIDS, in 1986, and it is endemic to West Africa. Cases of this infection are also present in European countries, such as Portugal where the rate of infection is 3,3%.

The aim of this study was to analyze and describe the trends of transmitted and acquired drug resistance to the antiretrovirals used in the treatment of the HIV-2 infection, between 1996 and 2019, in Portugal.

The population analyzed included 2083 individuals infected with HIV-2. Of these 302 were drug naïve and 228 were treated with antiretrovirals at the time of the resistance test. The history of treatment is unknown for 1553 individuals who integrate this population.

The drug naïve individuals were in their majority women (59,3%) and had a median age at the time of the resistance test of 51 years, while the treated individuals were mainly man (53,1%) and had a median age of 49 years at the time of the resistance test. In both groups we observed that most individuals were from Africa, mainly Guiné-Bissau (23,5% in drug naïve and 23,2% in treated individuals). In regard to the group of infection we concluded that all cases corresponded to group A of HIV-2.

Regarding TDR (Transmitted Drug Resistance) we observed a global prevalence of 4,0% and ADR (Acquired Drug Resistance) showed a global prevalence of 67,1%. Between 2007 and 2019, TDR showed an increase over time, as observed for the resistance to NRTI. The ADR also increased between 2007 and 2019, as well as the resistance to NRTI and to PI.

Globally we determined that TDR and ADR increased over time (2007-2019).

Keywords: HIV-2, Acquired drug resistance, Transmitted drug resistance, Portugal.

5.1.6. Inibidor da Entrada (IE).....	38
6. Terapêutica para a infecção por VIH-2	38
7. Classificação das mutações associadas a resistência.....	40
8. Mutações associadas a resistência aos antirretrovirais na infecção por VIH-2.....	40
Capítulo II – Objetivos	43
Capítulo III – Materiais e Métodos.....	45
1. População	45
2. Determinação do grupo de infecção VIH-2	45
3. Descrição da evolução da resistência transmitida e adquirida aos antirretrovirais	46
4. Análise de mutações associadas a resistência aos antirretrovirais	46
Capítulo IV – Resultados.....	47
1. Caracterização sociodemográfica e clínica da população estudada	47
2. Resistência transmitida.....	51
3. Resistência adquirida.....	55
4. Suscetibilidade farmacológica.....	59
Capítulo V – Discussão dos resultados.....	63
1. Limitações do estudo	68
2. Perspetivas futuras.....	69
Capítulo VI – Conclusão	71
Referências bibliográficas	73
Anexos.....	83

Índice de Figuras

Figura 1 - Comparação do perfil filogenético dos lentivírus símios com o do VIH-1 e do VIH-2.....	18
Figura 2 - Prevalência da infecção por VIH-2 no mundo e relações filogenéticas identificadas.....	19
Figura 3 - Organização estrutural do VIH-2.....	20
Figura 4 - Genoma dos vírus da imunodeficiência humana tipo 1 e tipo 2.....	21
Figura 5 - Estrutura da RT do VIH-2 comparada com a do VIH-1 (cinza), identificando a subunidade grande (p68) e a subunidade pequena (p55). Identificação dos domínios da RT (verde – palma, azul – dedos, vermelho – conexão, laranja – polegar e roxo – RNaseH)	22
Figura 6 - (A) Comparação entre a sequência de aminoácidos das PR do VIH-1 e 2 e identificação dos resíduos díspares (amarelo); (B) Estrutura da PR do VIH-2.....	23
Figura 7 - Estrutura da IN do VIH-2 e identificação dos diferentes domínios (vermelho – domínio N-terminal, azul – domínio central ou catalítico e verde – domínio C-terminal)	25
Figura 8 - Ciclo de Replicação do VIH e identificação dos alvos terapêuticos possíveis	27
Figura 9 - Estrutura química dos NRTI aprovados e utilizados no tratamento da infecção por VIH-1 e VIH-2	31
Figura 10 - Via metabólica para ativação da AZT	32
Figura 11 - Via metabólica para ativação da 3TC e FTC.....	32
Figura 12 - Via metabólica para ativação do TDF e TAF	33
Figura 13 - Via metabólica para ativação do ABC	34
Figura 14 - Estrutura química dos PI aprovados, incluindo os utilizados na infecção por VIH-1	35
Figura 15 - (A) Estrutura química do RAL, EVG e DTG e identificação das regiões catalítica e hidrofóbica destes fármacos, responsáveis pela interação com o local ativo da enzima. (B) Estrutura química do BIC	37

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Mutações associadas a resistência de alto grau e grau intermédio aos NRTI, PI e INSTI utilizados no tratamento da infeção por VIH-2.....	41
Tabela 2 - Caracterização sociodemográfica e clínica da população estudada	47
Tabela 3 - Proporção de resistência transmitida entre 2007 e 2019 e de resistência adquirida entre 1998 e 2019	52

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Distribuição por região de origem dos indivíduos da população global.....	50
Gráfico 2 - Evolução da resistência transmitida (TDR) em indivíduos infectados por VIH-2 entre 2007 e 2019.	53
Gráfico 3 - Mutações de resistência identificadas em indivíduos não-tratados (n= 302).	55
Gráfico 4 - Evolução da resistência adquirida (ADR) em indivíduos infectados por VIH-2 entre 1998 e 2006.	56
Gráfico 5 - Evolução da resistência adquirida (ADR) em indivíduos infectados por VIH-2 entre 2007 e 2019.	57
Gráfico 6 - Mutações de resistência identificadas em indivíduos tratados (n=228).....	59
Gráfico 7 - Fenótipos de resistência aos antirretrovirais utilizados para o tratamento da infeção por VIH-2 em indivíduos não-tratados.	60
Gráfico 8 - Fenótipos de resistência aos antirretrovirais utilizados para o tratamento da infeção por VIH-2 em indivíduos tratados.	61

Lista de Abreviaturas¹

3TC – Lamivudina

ABC – Abacavir

ADR – Resistência Adquirida aos Antirretrovirais

ADRM – Mutações Associadas a Resistência Adquiridas

ATV – Atazanavir

APV – Amprenavir

AZT – Zidovudina

BIC – Bictegravir

CCR5 – Coreceptor da quimiocina 5

CXCR4 – Coreceptor da quimiocina 4

dATP – Desoxiadenina trifosfato

dCTP – Desoxicitosina trifosfato

ddNTP – Didesoxinucleósidos trifosfato

dGTP – Desoxiguanina trifosfato

dTTP – Desoxitimidina trifostato

DTG – Dolutegravir

DRV – Darunavir

ELV/c – Elvitegravir potenciado com Cobicistato

EMA – Agência Europeia do Medicamento

FDA – *Food and Drugs Administration*

FPV – Fosamprenavir

FTC – Emtricitabina

¹ Optou-se por colocar algumas siglas na Língua Inglesa com a sua tradução em Português.

HAART – Terapêutica Antirretroviral de Alta Potência

HLA-B5701 – Antígeno Leucocitário Humano do subtipo B5701

HSH – Homens que têm sexo com homens

IDV – Indinavir

IN – Integrase

INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

INSTI – Inibidores de Transferência da cadeia da Integrase

PI – Inibidores da Protease

PI/r – Inibidores da Protease potenciados com Ritonavir

LPV – Lopinavir

NFV – Nelfinavir

NNRTI – Inibidores Não Nucleósidos da Transcriptase Reversa

NRTI – Inibidores Nucleósidos/Nucleótidos da Transcriptase Reversa

PR – Protease

RAL – Raltegravir

RT – Transcriptase Reversa

RTV – Ritonavir

SIDA – Síndrome de Imunodeficiência Adquirida

SQV – Saquinavir

T20 – Enfuvirtida

TAR – Elemento de Resposta à Transativação

TARc – Terapêutica Antirretroviral Combinada

TDF – Tenofovir

TDR – Resistência Transmitida aos Antirretrovirais

¹ Optou-se por colocar algumas siglas na Língua Inglesa com a sua tradução em Português.

TDRM – Mutações Associadas a Resistência Transmitidas

TPV – Tipranavir

TR – Teste de Resistência aos antirretrovirais

VHB – Vírus da Hepatite B

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

VIH-1 – Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1

VIH-2 – Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2

VIS_{cpz} – Vírus da Imunodeficiência Símia dos Chimpanzés

VIS_{smm} – Vírus da Imunodeficiência Símia do Macaco Verde Africano

¹ Optou-se por colocar algumas siglas na Língua Inglesa com a sua tradução em Português.

Capítulo I – Introdução

1. Vírus da Imunodeficiência Humana

Em 1983, no Instituto Pasteur em Paris, foi isolado pela primeira vez o agente causador da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA), o Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 (VIH-1). Luc Montagnier e a sua equipa conseguiram isolar este vírus a partir de tecido de uma biópsia de nódulo linfático, de um indivíduo do sexo masculino de 33 anos, pertencente ao grupo dos homens que têm sexo com homens (HSH) e que apresentava linfadenopatias. Em 1984, no National Cancer Institute em Bethesda, Robert Gallo e a sua equipa isolaram também este mesmo vírus. A descoberta do VIH-1 foi disputada entre estas duas equipas durante anos, acabando por ser resolvida em tribunal e atribuída à equipa francesa. Em 2008, esta equipa foi distinguida oficialmente pela descoberta do VIH-1 com a atribuição do prémio nobel da medicina (Bagasra & Pace, 2008; Gallo & Montagnier, 2003; Schmid, 2018).

O VIH-1 encontra-se dividido nos grupos M, N, O e P. O grupo M encontra-se subdividido nos subtipos A a D, F a H, J e K, existindo ainda formas recombinantes designadas por CRF (formas recombinantes circulantes) que atualmente representam mais de 20% de todos os vírus circulantes (German Advisory Committee Blood (Arbeitskreis Blut) & Blood', 2016). As formas CRF01_AE e CRF04_cpx são exemplos de formas recombinantes circulantes e correspondem aos anteriores subtipos E e I do grupo M, respetivamente (German Advisory Committee Blood (Arbeitskreis Blut) & Blood', 2016). O VIH-1 (grupo M) é o vírus responsável pela pandemia atual de casos de VIH (Simon, Ho, & Karim, 2006). O epicentro desta pandemia situa-se na região da África Subsariana que mantém elevadas taxas de infeção (Pereira & Costa, 2016; Simon et al., 2006). Em Portugal, em 2018, foram diagnosticados 928 novos casos de infeção por VIH-1 perfazendo um total acumulado desde 1983 de 57131 casos que representam 95,4% dos casos de VIH (VIH-1 e VIH-2) (Direção-Geral da Saúde & Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2019).

No entanto, o VIH-1 não é o único agente causador de SIDA e isso veio a comprovar-se em 1986 com a descoberta do Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2 (VIH-2). Este vírus foi isolado, tal como o VIH-1, no Instituto Pasteur em Paris, a partir de amostras de dois pacientes internados no Hospital de Egas Moniz (CHLO), em Lisboa. Estes dois

indivíduos eram provenientes da Guiné-Bissau e de Cabo Verde, duas ex-colónias portuguesas situadas na África Ocidental. Nesta altura, o VIH-2 veio a distinguir-se do já identificado VIH-1, apenas por diferenças genéticas e serológicas (Clavel et al., 1986; Reeves & Doms, 2002). À semelhança do VIH-1, também o VIH-2 é composto por diversos grupos, tendo-se até hoje identificado nove. Estes grupos são classificados de A a I, sendo que a nível clínico apenas se encontram reportados casos de infeção por VIH-2 pertencentes aos grupos A e B (Gottlieb, Raugi, & Smith, 2018; Visseaux, Damond, Matheron, Descamps, & Charpentier, 2016).

2. Taxonomia e Características gerais

Os vírus de imunodeficiência humana tipo 1 e 2 pertencem à ordem *Ortervirales*, família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e género *Lentivirus* (ICTV, 2018).

Através de análise filogenética sabe-se que o VIH-1 teve origem no Vírus da Imunodeficiência Símia dos chimpanzés, subespécie *Pan troglodytes troglodytes* (VIS_{cpz}) enquanto o VIH-2 teve origem no Vírus da Imunodeficiência Símia (VIS_{smm}) do macaco verde africano (*sooty mangabey monkeys*) subespécie *Cercocebus atys*, como ilustra a figura 1 (Gottlieb et al., 2018; Pereira & Costa, 2016; Visseaux et al., 2016).

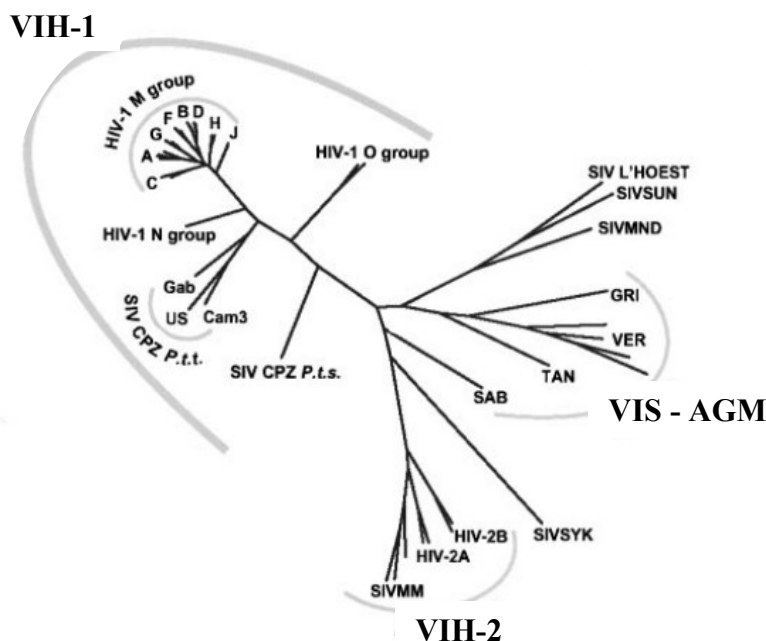


Figura 1 - Comparação do perfil filogenético dos lentivírus símios com o do VIH-1 e do VIH-2, (Adaptado de Reeves & Doms, 2002).

3. Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2

O VIH-2 foi identificado como o segundo agente causador de SIDA em 1986. Este vírus é endêmico na África Ocidental, tendo-se mantido circunscrito a essa região durante um longo período de tempo. Estima-se que nesta região o vírus tenha já infetado entre 1 a 2 milhões de pessoas. Atualmente, o VIH-2 continua a ser muito prevalente na região endêmica, mas casos de infeção estão também presentes em países europeus com ligações a esta região africana, como é o caso de Portugal e França (figura 2) (Clavel et al., 1986; Gottlieb et al., 2018; Hightower & Kallas, 2003; Nicolás et al., 2015; Visseaux et al., 2016).



Figura 2 - Prevalência da infeção por VIH-2 no mundo e relações filogenéticas identificadas, (Adaptado de Faria, Esbjörnsson, & Lemey, 2018).

Apesar do VIH-2 só ter sido isolado em 1986 existem várias indicações de que este vírus esteve presente na África Ocidental durante as décadas de 1960 e 1970 (Faria et al., 2018). Através da análise retrospectiva de soros preservados, foi possível confirmar tal hipótese e identificar que, na sua maioria, os casos correspondem a portugueses que viveram na Guiné-Bissau. Isto permitiu concluir que os grupos predominantes, A e B, surgiram na população décadas antes da identificação do VIH-2. No que diz respeito ao grupo A é possível afirmar que existiu na Guiné-Bissau um pico de casos de infeção entre 1950 e 1970, pico esse que entrou em declínio nos anos 80 (Faria et al., 2018).

Através de estudos filogenéticos observou-se uma maior relação entre os vírus identificados em países da região endêmica e os seus antigos detentores coloniais. Assim,

reporta-se maior relação entre os vírus identificados em Portugal com os identificados na Guiné-Bissau e Cabo Verde, e o VIH-2 identificado em França com o identificado no Senegal e na Costa do Marfim. A nível europeu, Portugal é o país com maior taxa de infecção por este vírus (3,3%) (Direção-Geral da Saúde & Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2019; Faria et al., 2018). No continente americano os casos de infecção por VIH-2 são raros, apesar de haver evidência da sua presença nos Estados Unidos, Canadá, Brasil e Colômbia. Na Ásia, apenas foram reportados casos na Índia, Coreia do Sul e Japão (Faria et al., 2018).

3.1. Organização estrutural

O VIH-2 tem cerca de 100 nm de diâmetro e o seu genoma é constituído por duas moléculas de RNA de cadeia simples. O invólucro é constituído por trómeros de proteínas codificadas pelo gene *env*. Os trómeros da glicoproteína gp105 estão ancorados à membrana através dos domínios transmembranares da glicoproteína gp36. O precursor genético destas proteínas origina a glicoproteína precursora gp140 que é posteriormente clivada nas mencionadas anteriormente. A cápside apresenta forma cónica e simétrica e é composta pelas proteínas expressas pelo gene *gag*. As proteínas p15 e p26, formam respetivamente as suas membranas externa e interna, tendo como precursor a proteína p55. A organização estrutural é evidenciada na figura 3 (German Advisory Committee Blood (Arbeitskreis Blut) & Blood', 2016; Nicolás et al., 2015).

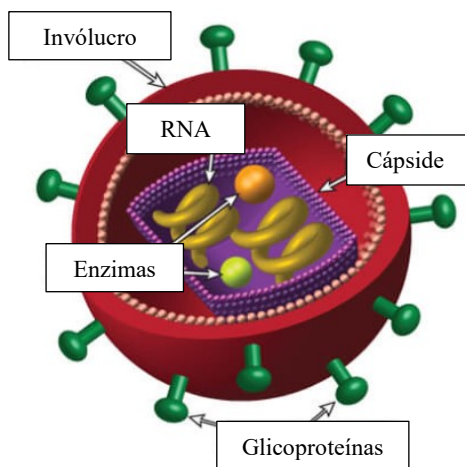


Figura 3 - Organização estrutural do VIH-2, (Adaptado de <https://aidsinfo.nih.gov/understanding-hiv-aids/fact-sheets/19/73/the-hiv-life-cycle>).

3.2. Organização genômica

O VIH-2 possui como genes estruturais, os genes *gag*, *pol* e *env* e como genes reguladores, os genes *vif*, *rev*, *tat*, *vpx*, *vpr* e *nef*, tal como se observa na figura 4. O gene *pol* codifica para as enzimas virais essenciais à replicação do vírus, sendo estas a Transcriptase reversa (RT), a Integrase (IN) e a Protease (PR). A nível dos genes reguladores, o gene *tat* codifica para a proteína ativadora da transcrição dos genes virais, o gene *rev* atua como regulador do splicing do RNA, o gene *vif* é essencial à infecciosidade do vírus, o gene *nef* codifica para um fator de regulação negativa e o gene *vpr* é um componente das partículas víricas útil na libertação das mesmas. A principal diferença a nível genético entre o VIH-1 e VIH-2 é a presença do gene *vpu* no VIH-1, enquanto que no VIH-2 encontramos o gene *vpx* (Fanales-Belasio, Raimondo, Suligoj, & Buttò, 2010; Nicolás et al., 2015).

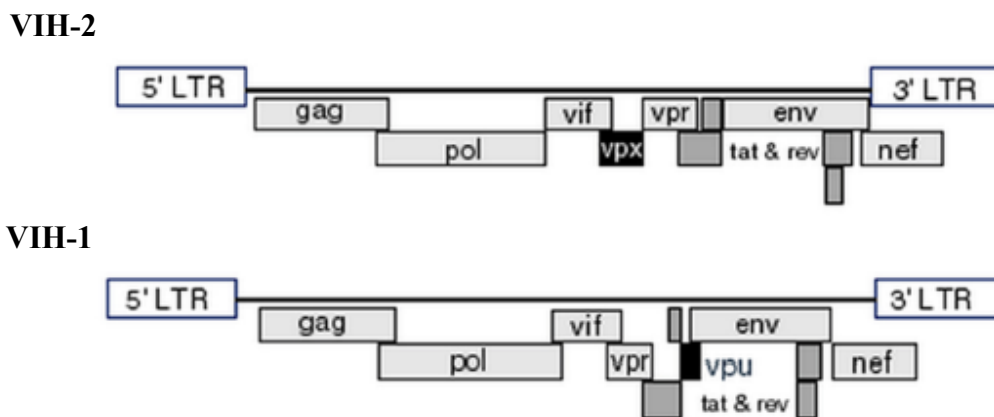


Figura 4 - Genoma dos vírus da imunodeficiência humana tipo 1 e tipo 2, (Adaptado de Makvandi-Nejad & Rowland-Jones, 2015).

3.3. Transcriptase reversa

A transcriptase reversa do VIH-2 é uma enzima heterodimérica, composta por uma subunidade grande com 68kDa (p68) e outra pequena com 55kDa (p55), responsável pela conversão do genoma de RNA de cadeia simples em DNA de cadeia dupla, que vai posteriormente ser integrado no DNA da célula hospedeira. Esta possui duas atividades catalíticas, atividade de DNA polimerase e atividade de RibonucleaseH (RNaseH), sendo assim possível, durante a replicação do vírus, a produção de DNA através do RNA viral e posterior destruição deste RNA (Deuzing et al., 2015; Post et al., 2003; Ren et al., 2002). As duas subunidades são compostas por cinco subdomínios designados por dedos, palma,

polegar, conexão e terminação C, sendo estes dois últimos parte do domínio da RNaseH. O domínio de polimerase encontra-se situado na subunidade p68 e neste os subdomínios dedos, palma e polegar formam o local ativo da polimerase composto por três resíduos aspártico catalíticos (figura 5) (Ding et al., 1995).

A nível de diferenças entre a RT do VIH-1 e VIH-2 sabe-se que a percentagem de dez aminoácidos varia de uma para outra, sendo estes a alanina, glicina, fenilalanina, leucina, histidina, serina, triptofano, glutamato, prolina e glutamina (Behbahani, Mohabatkar, & Nosrati, 2018). Os cinco domínios da subunidade p68 têm a mesma conformação que os da RT do VIH-1, mas observam-se diferenças substanciais na subunidade p55. A subunidade p55 termina no resíduo 431 o que sugere a ausência de 5 resíduos da terminação N na RT do VIH-2 quando comparada com a do VIH-1 (Ren et al., 2002).

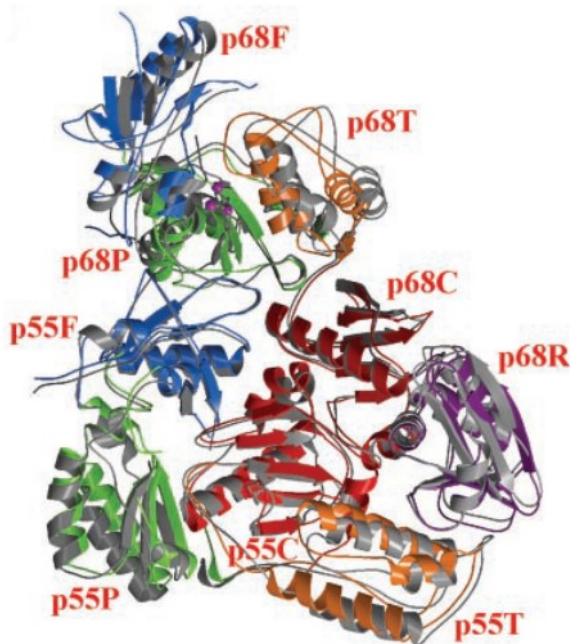


Figura 5 - Estrutura da RT do VIH-2 comparada com a do VIH-1 (cinza), identificando a subunidade grande (p68) e a subunidade pequena (p55). Identificação dos domínios da RT (verde – palma, azul – dedos, vermelho – conexão, laranja – polegar e roxo – RNaseH), (Adaptado de Ren et al., 2002).

3.4. Protease

A protease viral tem como função a clivagem das proteínas codificadas pelo gene *gag* e *pol* na sua forma funcional, processo crítico para a subsequente replicação viral e infecciosidade do VIH. Esta enzima homodimérica simétrica, é constituída por duas subunidades que por sua vez são compostas por 99 aminoácidos, cada uma com um

resíduo aspártico que forma o local ativo da enzima. Cada monómero é composto por duas camadas de folhas beta orientadas ortogonalmente que formam o centro hidrofóbico da enzima. As subunidades contêm ainda um *hairpin* flexível conhecido como uma “*flap region*” que inclui os resíduos 42 a 58 e que fecha após ligação com o substrato. Os resíduos aspárticos do local ativo estão ligados por meio de pontes de hidrogénio, que formam uma estrutura chamada “*fireman’s grip*” e os resíduos 85 a 88 são responsáveis por manter os resíduos aspártico na sua conformação propícia à clivagem de substratos. As terminações amino e carboxil dos monómeros formam uma folha beta com quatro cadeias essenciais à dimerização (Arts, Hazuda, Bushman, Nabel, & Swanstrom, 2012; Raugi, Smith, & Gottlieb, 2016; Ribera, Tuset, Martín, & Del Cacho, 2011).

As diferenças entre as proteases virais do VIH-1 e do VIH-2 estabelecem-se a nível da sequência de aminoácidos dos locais de clivagem dos precursores virais e a sua especificidade para os substratos peptídicos. Estas variações a nível da sequência na região da protease são responsáveis pelas diferenças de eficácia dos Inibidores da Protease (PI) que foram desenhados e desenvolvidos para o VIH-1. O local de ligação dos inibidores da protease varia apenas pela substituição dos resíduos hidrofóbicos Val32, Ile47, Leu76 e Val82 na protease do VIH-1 pelos resíduos Ile32, Val47, Met76 e Ile82 na protease do VIH-2 (Arts et al., 2012; Raugi et al., 2016; Tie et al., 2012). A estrutura da enzima e as diferenças a nível da sequência de aminoácidos podem ser observadas na figura 6.

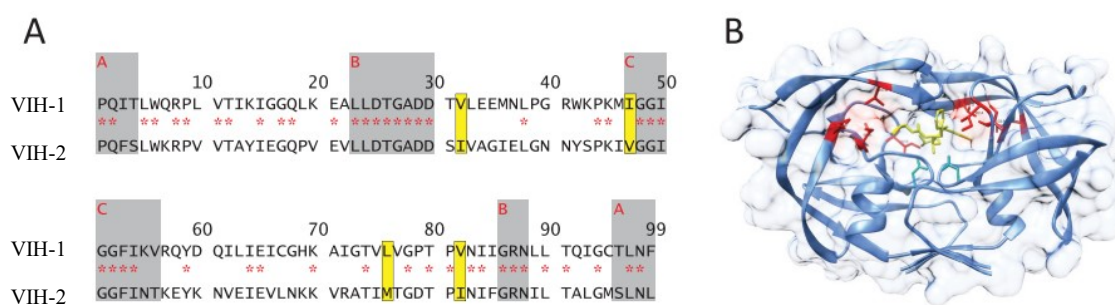


Figura 6 - (A) Comparação entre a sequência de aminoácidos das PR do VIH-1 e 2 e identificação dos resíduos díspares (amarelo); (B) Estrutura da PR do VIH-2, (Adaptado de Raugi et al., 2016).

3.5. Integrase

A integrase é uma das três enzimas mais importantes do VIH, sendo essencial à integração, processo pelo qual o DNA viral recém-formado pela RT é inserido ao acaso no DNA da célula hospedeira. Esta possui duas atividades catalíticas, a clivagem endonucleolítica na extremidade 3'-OH do genoma viral e um mecanismo de transesterificação. Codificada no final do gene *pol*, possui uma diferente extensão consoante o grupo do VIH-2. No grupo A o gene possui 293 codões, mas no grupo B observa-se que o gene contém 287 ou 301 codões. Consiste num homotetrâmero composto por três domínios em cada monómero. O domínio N-terminal contém os resíduos 1 a 49 e um par de motivos HHCC análogos a um íão zinco que atuam estabilizando a estrutura de hélice alfa deste domínio. O domínio central ou catalítico inclui os resíduos 50 a 212 e é responsável pela ligação das extremidades do DNA através dos resíduos Q148, K156 e K159. A tríade catalítica forma um *pocket* onde se liga o catião divalente Mg^{2+} . O domínio C-terminal restrito aos resíduos 213 a 288 é o menos conservado dos três entre os retrovírus. É composto por folhas beta, liga-se de forma não específica ao DNA viral e é maioritariamente responsável pela estabilidade do complexo enzima-DNA (Andrake & Skalka, 2015; Bercoff et al., 2010; Delelis, Carayon, Saïb, Deprez, & Mouscadet, 2008; Roquebert et al., 2008). Calcula-se que a sensibilidade aos Inibidores de Transferência de cadeia da Integrase (INSTI) se deve à conservação da tríade catalítica DDE (posições 64, 116 e 152) e dos motivos HHCC (posições 12, 16, 40 e 43) e RKK (posições 231, 258 e 264) entre a IN do VIH-1 e VIH-2.

No VIH-2, a IN possui polimorfismos naturais, em cinco posições no grupo A (72, 74, 153, 165, 201) e três no grupo B (74, 153, 165) (Cavaco-Silva et al., 2014; Roquebert et al., 2008). A estrutura da enzima é evidenciada na figura 7.

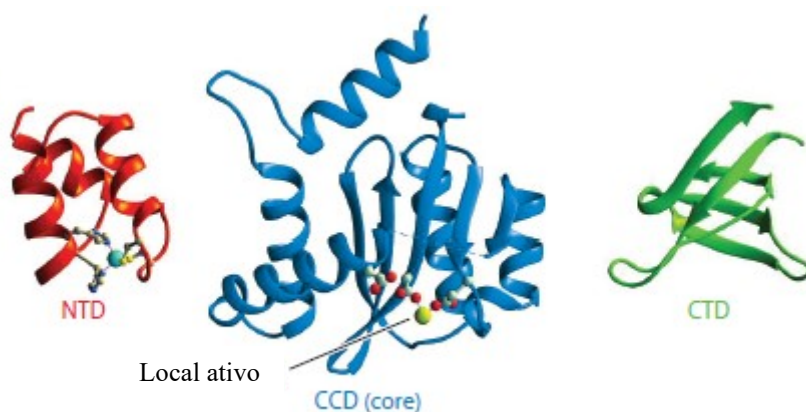


Figura 7 - Estrutura da IN do VIH-2 e identificação dos diferentes domínios (vermelho – domínio N-terminal, azul – domínio central ou catalítico e verde – domínio C-terminal), (Adaptado de Andrade & Skalka, 2015).

3.6. Ciclo de replicação

O ciclo de replicação do VIH é composto por seis etapas e o alvo deste vírus são células que possuem o recetor CD4+, nomeadamente os linfócitos T, monócitos, macrófagos e células dendríticas (Maartens, Celum, & Lewin, 2014).

- **Ligação e Fusão:** consiste na ligação do vírus, nomeadamente da glicoproteína gp120 para o VIH-1 e gp105 para o VIH-2, que se encontra à superfície do invólucro viral, ao recetor CD4+ das células alvo. Esta ligação dá origem a uma modificação conformacional na glicoproteína gp120/105, que posteriormente se liga ao coreceptor de membrana, coreceptor da quimiocina 5 (CCR5) ou coreceptor da quimiocina 4 (CXCR4). O VIH-2 tem ainda a capacidade, com base em estudos *in vitro*, de se ligar a outros coreceptores das quimiocinas como o CCR1, CCR2b, CCR3, CCR8, BOB, BONZO, CXCR1, GPRI, APJ e US28, (Marchant, Neil, & McKnight, 2006). Uma nova modificação conformacional leva a que a glicoproteína vírica gp41 para o VIH-1 e gp36 para o VIH-2, se funda com a membrana da célula alvo (Azevedo-Pereira, 2018; Nicolás et al., 2015; Nisole & Saïb, 2004; Reeves & Doms, 2002).
- **Transcrição Reversa:** durante esta etapa ocorre translocação do vírus para o interior da célula. As partículas sofrem rearranjo perdendo a membrana que as envolve e formando-se os chamados complexos de transcrição reversa e os complexos de pré-integração. Quando no citoplasma a RT viral é ativada e inicia-

-se a formação de cadeias simples de DNA complementar, que são depois sintetizadas em DNA de dupla cadeia pelo domínio de DNA polimerase da RT. Em paralelo à síntese de DNA, o RNA viral é destruído pela atividade do domínio de RNaseH da RT (Azevedo-Pereira, 2018; Nicolás et al., 2015; Nisole & Saïb, 2004; Post et al., 2003).

- **Integração:** tem início quando o DNA recém-formado é transportado para o núcleo, através dos núcleoporos, e a IN viral insere o DNA no genoma da célula, ao acaso. A IN cliva nucleótidos de cada terminação 3' do DNA de dupla hélice e permite depois que este se ligue ao DNA da célula hospedeira. Esta fase de integração finaliza a infeção da célula e estabelece o estadió de infeção persistente no indivíduo. Assim, o DNA integrado é designado como provírus (Azevedo-Pereira, 2018; Fanales-Belasio et al., 2010; Nisole & Saïb, 2004).
- **Transcrição:** consiste na replicação de DNA proviral que tem início quando há ativação da célula infetada formando-se mRNA viral pela atividade da RNA polimerase e vários fatores de transcrição da célula hospedeira. Esta tem início com a síntese de proteínas reguladoras do vírus, como a Tat e a Rev. A Tat vai ligar-se ao Elemento de Resposta à Transativação (TAR) no início da cadeia de RNA viral e estimula a transcrição de transcritos de RNA de maiores dimensões. A proteína reguladora Rev facilita a formação dos transcritos de maiores dimensões e a expressão dos genes estruturais. De todo o mRNA formado, uma parte vai dar origem ao RNA viral e outra vai ser traduzida formando as proteínas virais (Azevedo-Pereira, 2018; Fanales-Belasio et al., 2010; Nisole & Saïb, 2004).
- **Gemulação:** durante esta fase as proteínas precursoras do gene *gag* (*p55*), *pol* e *env* (gp160 no VIH-1 e gp140 para o VIH-2) reorganizam-se e em conjunto com duas cadeias de RNA viral dão origem a uma cápside viral primordial. Ocorre migração da partícula até à membrana plasmática da célula hospedeira num local onde esta se encontra mais espessa e dá-se início à fase de gemulação, sendo que parte dessa membrana é removida formando o invólucro viral recoberto pelas glicoproteínas, gp105 e gp36 para o VIH-2 e gp120 e gp41 para o VIH-1. (Azevedo-Pereira, 2018; Fanales-Belasio et al., 2010; Nicolás et al., 2015).

- Maturação Viral:** pressupõe a ação da PR viral que vai clivar as proteínas virais imaturas ativando-as. Estas proteínas recém-formadas e o material genético viral sofrem reorganização estrutural formando partículas maduras e infecciosas, os viriões. As proteínas codificadas pelos genes *pol* e *gag* formam o core da partícula de VIH, enquanto os produtos do gene *env* dão origem ao invólucro do vírus. A proteína precursora do gene *pol* dá origem às enzimas RT, PR e IN e a proteína precursora do gene *gag* (p55) é clivada nas proteínas p26 e p15, no caso do VIH-2, e nas proteínas p24 e p17 para o VIH-1, que constituem a cápside viral. O gene *env*, após transcrição, origina a proteína precursora gp140 no caso do VIH-2 que é clivada nas proteínas gp105 e gp36 que constituem, respetivamente, a glicoproteína externa e a glicoproteína transmembranar do invólucro viral. No caso do VIH-1 a proteína precursora gp160 é clivada nas proteínas gp120 e gp41. No fim deste ciclo as novas partículas são capazes de infectar outras células (Azevedo-Pereira, 2018; Fanales-Belasio et al., 2010; Nicolás et al., 2015) (Figura 8).

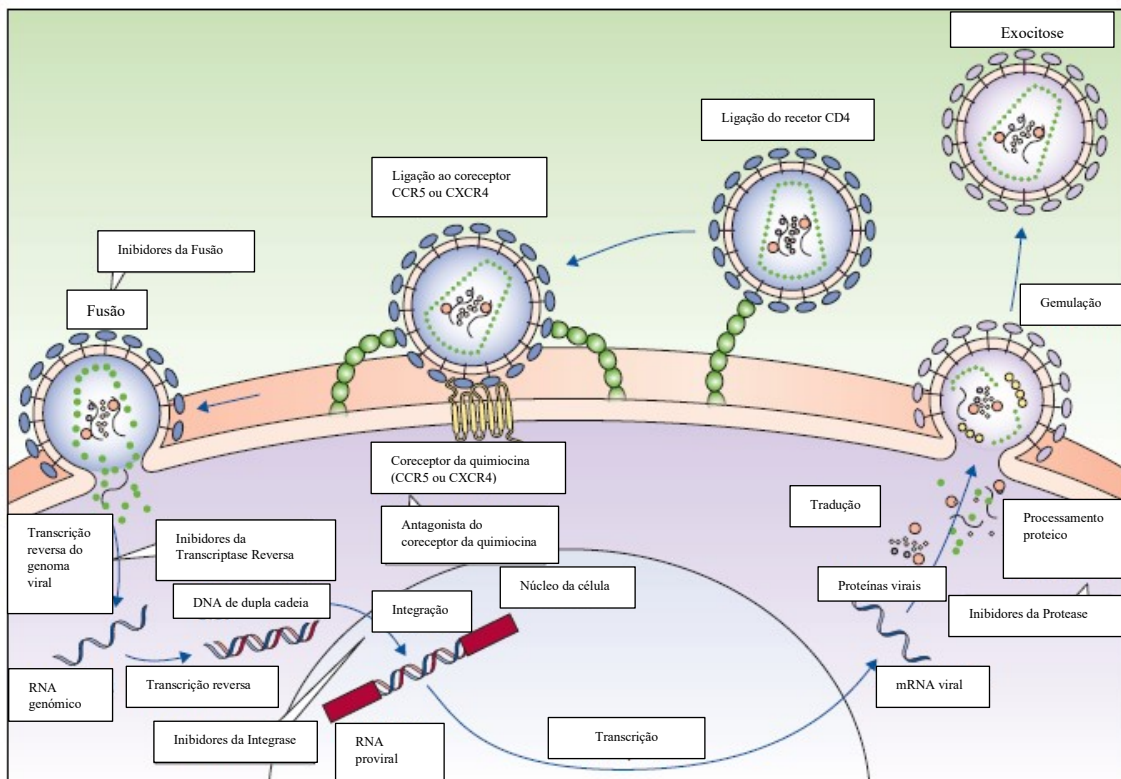


Figura 8 - Ciclo de Replicação do VIH e identificação dos alvos terapêuticos possíveis, (Adaptado de Maartens et al., 2014).

4. A situação em Portugal

Segundo dados do Instituto Nacional de Saúde (INSA) Doutor Ricardo Jorge, em 2018, foram diagnosticados 29 novos casos de infeção por VIH-2. O maior número de casos correspondia a mulheres (58,6%), indivíduos com 50 ou mais anos (69%) e nascidos em países da África Subsariana (65,5%), principalmente da Guiné Bissau (41,4%). Em 2018 encontravam-se notificados, no nosso país, um total de 1989 casos de VIH-2 correspondendo a 3,3% das infeções por VIH (VIH-1 e VIH-2). A mediana da idade à data de diagnóstico das infeções por VIH-2 era de 43 anos e mais de metade dos infetados (65,7%) residiam na zona de Lisboa. Quanto à naturalidade, cerca de 62,4% dos casos de VIH-2 correspondiam a pessoas originárias de países da África Subsariana, maioritariamente da Guiné Bissau (70,8%). A via de transmissão com maior expressão era a sexual e dentro desta o contacto heterossexual (84,6%) (Direção-Geral da Saúde & Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2019).

5. Terapêutica antirretroviral

Dois anos após o isolamento do VIH-1 (1983) começaram a surgir tentativas de desenvolvimento de antirretrovirais que permitissem o combate desta infeção. Em 1985, foi implementado o diagnóstico da infeção com recurso à deteção de anticorpos contra o VIH-1, e logo tiveram início ensaios clínicos para o desenvolvimento dos Inibidores Nucleósidos/Nucleótidos da Transcriptase Reversa (NRTI), representando o primeiro marco da terapêutica antirretroviral. O primeiro fármaco a ser aprovado foi a Zidovudina (AZT) em 1987, tendo-se observado uma maior sobrevivência dos indivíduos infetados às 24 semanas após o início da terapêutica. No entanto, às 48 semanas o benefício observado era praticamente nulo. Num curto prazo de tempo foram desenvolvidos mais três fármacos pertencentes a esta classe, a Zalcitabina, a Didanosina e a Estavudina. O segundo marco da terapêutica antirretroviral consistiu no tratamento combinado com mais do que um fármaco. Observou-se maior eficácia destes esquemas, não sendo, no entanto, ainda uma opção viável devido à elevada toxicidade que estes regimes terapêuticos apresentavam (Vella, Schwartländer, Sow, Eholie, & Murphy, 2012).

A terapêutica antirretroviral sofreu uma revolução em meados dos anos 90, com o desenvolvimento dos Inibidores da Protease (PI). Em 1995, o Saquinavir foi o primeiro PI a ser aprovado. De igual forma, surgiram os Inibidores Não Nucleósidos da

Transcriptase Reversa (NNRTI), cujo primeiro fármaco a ser aprovado foi a Nevirapina, em 1996. Com a introdução destas novas classes surgiu, em 1996, o conceito de terapêutica antirretroviral de alta potência (HAART), que incluía 3 fármacos. Chegou a combinar-se quatro fármacos, mas concluiu-se que levava apenas ao aumento da toxicidade e não da eficácia terapêutica (Vella et al., 2012). A terapêutica atual é designada por terapêutica antirretroviral combinada (TARc) e baseia-se no mesmo princípio de combinação de fármacos para obtenção de um esquema eficaz diferenciando-se pela introdução de co-formulações que permitem a toma de um único comprimido por dia, que contém três princípios ativos. A justificação para a sua implementação foi a maior eficácia alcançada no combate ao vírus resultante da maior facilidade na manutenção da adesão à terapêutica (Arts et al., 2012). Em 2006, com a aprovação do primeiro regime de comprimido único, composto por Tenofovir/Emtricitabina/Efavirenz, dá-se a introdução desta noção na terapêutica da infeção por VIH-1 (Astuti & Maggiolo, 2014; Cutrell & Bedimo, 2016). A introdução do regime de comprimido único permitiu a administração diária de apenas um comprimido. Por conveniência para o doente este regime é preferível sempre que a sua utilização demonstre igual eficácia e tolerabilidade, quando comparado com esquemas com as formulações individuais (Astuti & Maggiolo, 2014).

Os regimes atuais consistem em combinações de três fármacos pertencentes a duas ou mais classes de antirretrovirais e estão a ter início novas estratégias apenas com dois fármacos pertencentes a classes diferentes. A TARc quando efetiva permite o controlo da replicação viral e contribuí para o aumento do título das células CD4+ prolongando a fase assintomática, diminuindo a taxa de progressão e diminuindo o risco de transmissão da infeção por VIH. Desde o início da sua utilização clínica, a terapêutica antirretroviral tem contribuído para uma diminuição significativa da mortalidade e da morbilidade associada à infeção por VIH (Bhatti, Usman, & Kandi, 2016; Fernández-Ortega et al., 2016).

5.1. Classes terapêuticas de antirretrovirais

Atualmente, existem seis classes de antirretrovirais, os Inibidores Não Nucleósidos da Transcriptase Reversa (NNRTI), os Inibidores Nucleósidos/Nucleótidos da Transcriptase Reversa (NRTI), os Inibidores da Protease (PI), os Inibidores de Transferência de Cadeia da Integrase (INSTI), o Inibidor da Fusão (IF) e o Inibidor da Entrada (IE) (De Clercq, 2009).

5.1.1. Inibidores Não Nucleósidos da Transcriptase Reversa (NNRTI)

Os NNRTI ao contrário dos NRTI são inibidores não competitivos, uma vez que o seu local de ligação se encontra afastado do domínio de DNA polimerase da RT e deste modo não interferem diretamente na síntese de DNA. São fármacos que interagem com o local alostérico da RT situado não muito longe do local ativo, localizado no domínio da palma, e inibem a ação da RT através da ligação e formação de um bolso hidrofóbico. A formação deste bolso hidrofóbico é caracterizada pela alteração conformacional das cadeias laterais dos aminoácidos chave, tirosina nas posições 181 e 188 no VIH-1 (Ren & Stammers, 2008). A esta classe pertencem a Nevirapina, a Delavirdina, o Efavirenz, a Etravirina, a Rilpivirina e a Doravirina (Arts et al., 2012; De Clercq, 2009; Zhang, 2018).

Os NNRTI não estão recomendados para o tratamento da infeção por VIH-2, uma vez que o VIH-2 lhes tem resistência natural. A resistência intrínseca aos NNRTI deve-se às diferenças na sequência de aminoácidos em redor dos dois pontos de ligação destes fármacos à enzima. Estudos apontam que esta resistência se deve apenas à alteração do aminoácido leucina-188 nestes locais. No entanto, estudos apontam para o facto de que estes fármacos têm atividade sobre o VIH-2, sendo no entanto necessárias doses mais elevadas que aquelas utilizadas na infeção por VIH-1 o que aumenta a probabilidade de efeitos adversos e toxicidade, não sendo por isto recomendada a sua utilização (Hightower & Kallas, 2003; Ren & Stammers, 2008).

5.1.2. Inibidores Nucleósidos/Nucleótidos da Transcriptase Reversa (NRTI)

Os NRTI são pro-fármacos e foram a primeira classe a surgir, com a aprovação pela FDA da Zidovudina (AZT), em 1987. Estes fármacos interagem com o local ativo da RT, onde se liga o substrato da mesma, sendo para isso necessária a sua fosforilação de modo a obter as formas difostato e trifostato ativas. Esta classe é composta pela Zidovudina (AZT), Didanosina (DDN), Zalcitabina (ZCT), Estavudina (STV), Lamivudina (3TC), Abacavir (ABC), Emtricitabina (FTC), Tenofovir (TDF) e Tenofovir alafenamida (TAF) (figura 9) (Arts et al., 2012; De Clercq, 2009; Zhang, 2018).

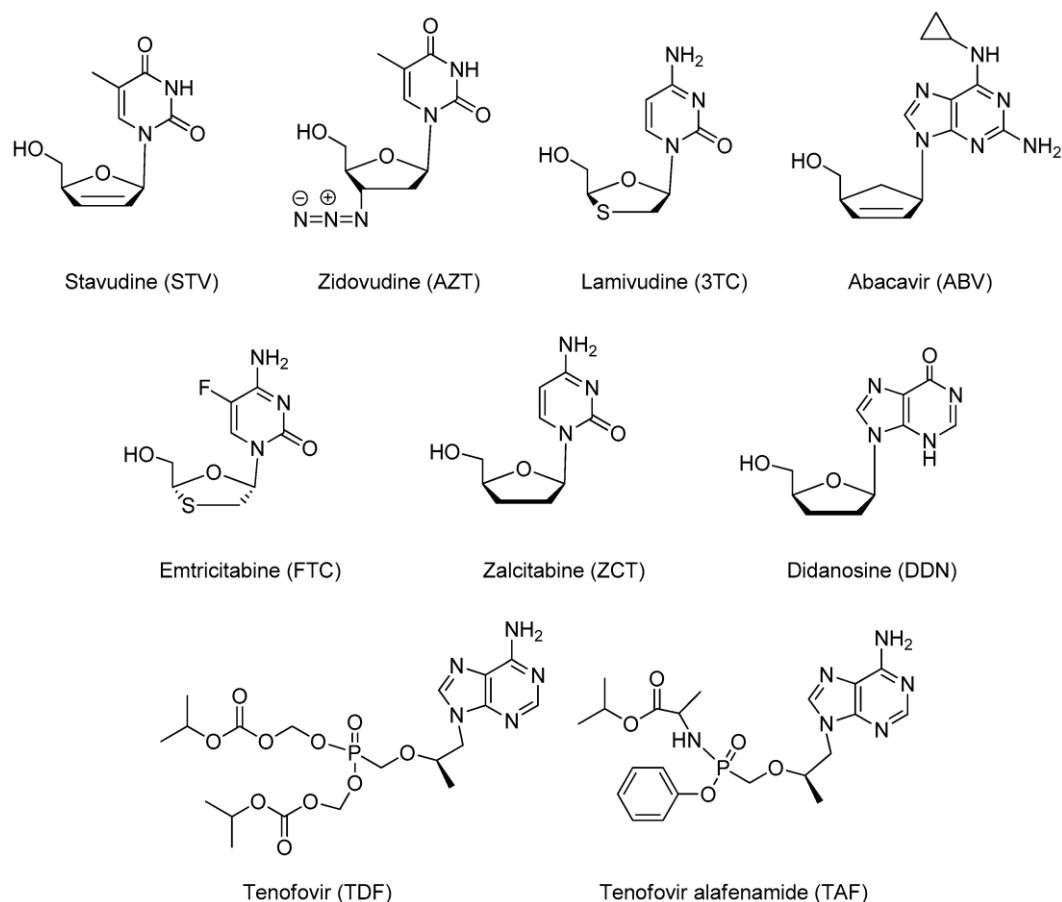


Figura 9 - Estrutura química dos NRTI aprovados e utilizados no tratamento da infecção por VIH-1 e VIH-2, (Disponível em Grande et al., 2019).

Após incorporação pelas células, estes fármacos vão ser fosforilados e originam didesoxinucleósidos trifosfato (ddNTP), que atuam como alternativa ao substrato natural desoxinucleótido trifosfato (dNTP). Como análogos competitivos estes vão ser incorporados na cadeia de DNA em síntese e vão atuar como terminadores de cadeia devido à ausência do grupo 3'-OH do metabolito ativo (Arts et al., 2012; De Clercq, 2009; Holec, Mandal, Prathipati, & Destache, 2017; Ibe & Sugiura, 2011; Zhang, 2018).

A AZT é um análogo da timidina, que após metabolização dá origem a didesoxitimidina trifostato e compete com o substrato natural desoxitimidina trifostato (dTTP) (figura 10) (Holec et al., 2017).

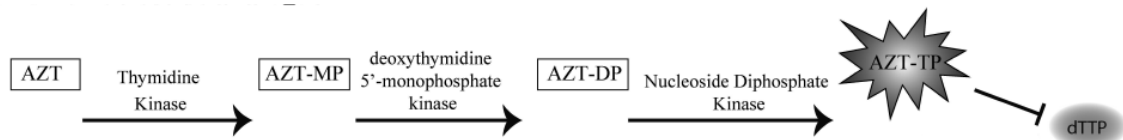


Figura 10 - Via metabólica para ativação da AZT (Nas caixas retangulares identifica-se o fármaco e seus metabolitos; Por cima das setas estão representadas as enzimas envolvidas na metabolização; No balão, em forma de estrela irregular, encontra-se o fármaco trifosfatado; No balão oval está representado o substrato natural com o qual o fármaco compete), (Disponível em Holec et al., 2017).

A AZT diferencia-se da timidina pela presença de um grupo azida (N_3) no lugar do grupo hidroxilo (OH) na posição 3' no anel de ribose. Assim, uma vez incorporada na cadeia de DNA o grupo N_3 não permite a ligação fosfodiéster nas terminações 5' para 3', requerida para o prolongamento da cadeia (Mcleod & Hammer, 1992).

A 3TC e a FTC são análogos da citosina, que após metabolização dão origem a didesoxicitosina trifosfato, que compete com o substrato natural desoxicitosina trifosfato (dCTP) (figura 11) (Holec et al., 2017).

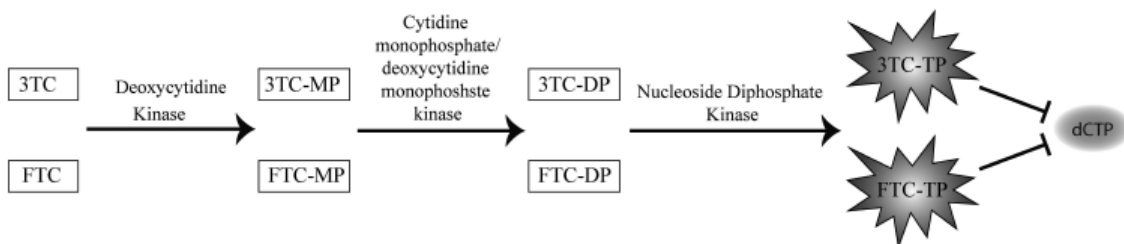


Figura 11 - Via metabólica para ativação da 3TC e FTC (Nas caixas retangulares identifica-se o fármaco e seus metabolitos; Por cima das setas estão representadas as enzimas envolvidas na metabolização; No balão, em forma de estrela irregular, encontra-se o fármaco trifosfatado; No balão oval está representado o substrato natural com o qual o fármaco compete), (Disponível em Holec et al., 2017).

A 3TC foi aprovada em 1995 pela FDA e em 1996 pela EMA (EMA, 2007; Holec et al., 2017) e é um enantiómero negativo da 2'-desoxi-3'-tiocitosina. A 3TC consiste numa mistura racémica dos enantiómeros BCH 189 e GR103365X e está recomendada para o tratamento da infeção por VIH-1, VIH-2 e pelo Vírus da Hepatite B (VHB) (Audsley, Giles, & Lewin, 2017).

A FTC foi aprovada pela FDA e pela EMA em 2003 (EMA, 2017a; Holec et al., 2017). É um derivado fluorado da 3TC, sendo tal como esta utilizada no tratamento da infeção por VIH-1, VIH-2 e VHB. Em comparação com a 3TC, a FTC apresenta maior tempo de semivida e maior biodisponibilidade oral (Masho, Wang, & Nixon, 2007).

O TDF e o TAF são éster pro-fármacos análogos da adenina cuja forma ativa compete com o substrato natural desoxiadenina trifosfato (dATP) (figura 12) (Holec et al., 2017).

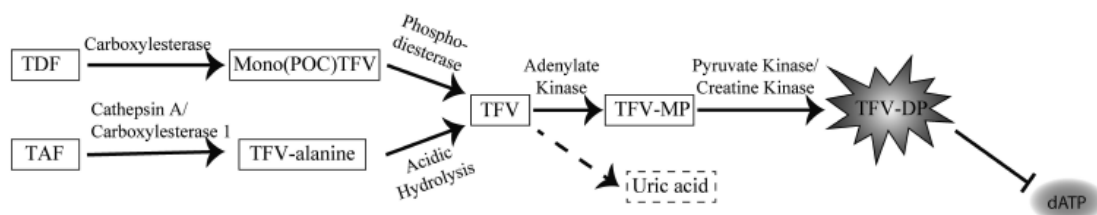


Figura 12 - Via metabólica para ativação do TDF e TAF (Nas caixas retangulares identifica-se o fármaco e seus metabolitos; Por cima das setas estão representadas as enzimas envolvidas na metabolização; No balão, em forma de estrela irregular, encontra-se o fármaco trifosfatado; No balão oval está representado o substrato natural com o qual o fármaco compete; Na caixa retangular tracejada, representa-se um metabolito produzido por outra via de metabolização), (Disponível em Holec et al., 2017).

O TDF contém dois grupos bis-isopropiloximetilcarbonato e foi aprovado em 2001 pela FDA e em 2002 pela EMA (EMA, 2018b; Holec et al., 2017). Ao contrário dos restantes fármacos desta classe e tal como o TAF, este é considerado um análogo dos nucleótidos uma vez que contém um grupo fosfato necessitando apenas de duas fosforilações para ser convertido no seu metabolito ativo trifosfatado (Ibe & Sugiura, 2011). Este fármaco possui não só indicação para o tratamento da infeção por VIH-1 e VIH-2, mas também para a infeção pelo VHB (EMA, 2018b; Ribera et al., 2011).

O TAF foi aprovado em 2015 pela FDA e 2017 pela EMA (EMA, 2017e; Holec et al., 2017). Assim como o TDF este fármaco pode ser utilizado como terapêutica para a infeção por VIH-1, VIH-2 e VHB. O TAF é um pro-fármaco do TDF e apresenta como vantagens, uma maior distribuição no tecido linfático (Grande et al., 2019), o facto da administração deste fármaco permitir alcançar concentrações intracelulares 6.5 vezes superiores àquelas obtidas com TDF (Hill, Hughes, Gotham, & Pozniak, 2018) e obter concentrações plasmáticas de tenofovir mais reduzidas, cerca de 86 a 91% menores, o que permite a administração de doses de TAF inferiores às necessárias no caso do TDF e consequentemente a redução de efeitos adversos como a probabilidade de nefrotoxicidade e perda de densidade óssea (Gibson, Shah, Nambiar, & Schafer, 2016; Hill et al., 2018).

O ABC é metabolizado a didesoxiguanina sendo um análogo que compete com a desoxiguanina trifosfato (dGTP), substrato natural da RT (figura 13), foi aprovado em 1998 pela FDA e 1999 pela EMA sendo um dos fármacos mais antigos desta classe em utilização para o tratamento da infeção por VIH (EMA, 2017f; Holec et al., 2017).

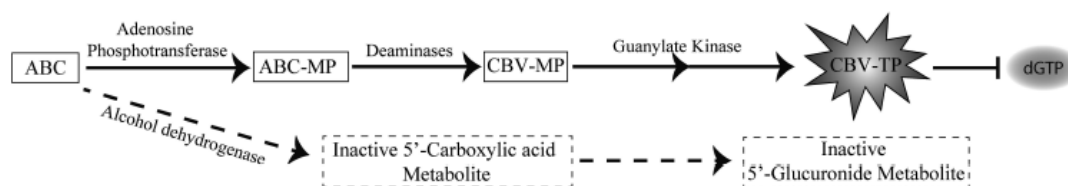


Figura 13 - Via metabólica para ativação do ABC (Nas caixas retangulares identifica-se o fármaco e seus metabolitos; Por cima das setas estão representadas as enzimas envolvidas na metabolização; No balão, em forma de estrela irregular, encontra-se o fármaco trifosfatado; No balão oval está representado o substrato natural com o qual o fármaco compete; Na caixa retangular tracejada, representam-se metabolitos produzidos por outra via de metabolização), (Disponível em Holec et al., 2017).

Antes de iniciar terapêutica com ABC o indivíduo infetado deve realizar um exame para pesquisa do alelo do antigénio leucocitário humano do subtipo B5701 (HLA-B5701), pois para os indivíduos que o possuam, o ABC não deve ser incluído no seu esquema terapêutico (EMA, 2017f), uma vez que a sua utilização está associada a uma reação de hipersensibilidade. No passado, 5 a 8% dos doentes tratados com este fármaco tiveram a necessidade de descontinuar o ABC por suspeita desta reação após 4 a 6 semanas do início do tratamento (Rodríguez-Nóvoa et al., 2007). Análises retrospectivas demonstraram que indivíduos com este alelo têm risco elevado de hipersensibilidade (aproximadamente 70%) ao ABC, enquanto que indivíduos que não o apresentam têm baixo risco (<1%) (Kassi & Kasi, 2005). A frequência deste alelo varia de acordo com a etnia, sendo mais frequente em caucasianos (5-8%) e hispânicos (4-7%) e menos frequentes em asiáticos (<1%). A frequência deste alelo é rara em indivíduos originários da África Subsariana (Rodríguez-Nóvoa et al., 2007).

As formulações com NRTI disponíveis em Portugal encontram-se identificadas no anexo II.

5.1.3. Inibidores da Protease (PI)

Existem atualmente dez PI aprovados, tendo estes sido inicialmente incluídos nos esquemas terapêuticos contra o VIH-1 e VIH-2 em 1995/1996 quando a primeira geração foi aprovada. Nos anos 2000, chegam então ao mercado os PI de segunda geração. A primeira geração de PI é composta pelo Amprenavir (APV), Saquinavir (SQV), Indinavir (IDV), Ritonavir (RTV), Nelfinavir (NFV) e o Fosamprenavir (FPV). Da segunda geração fazem parte o Lopinavir (LPV), Darunavir (DRV), Tipranavir (TPV) e o Atazanavir (ATV) (figura 14) (Arts et al., 2012; Mallolas, 2017; Wang, Lv, & Chu, 2015).

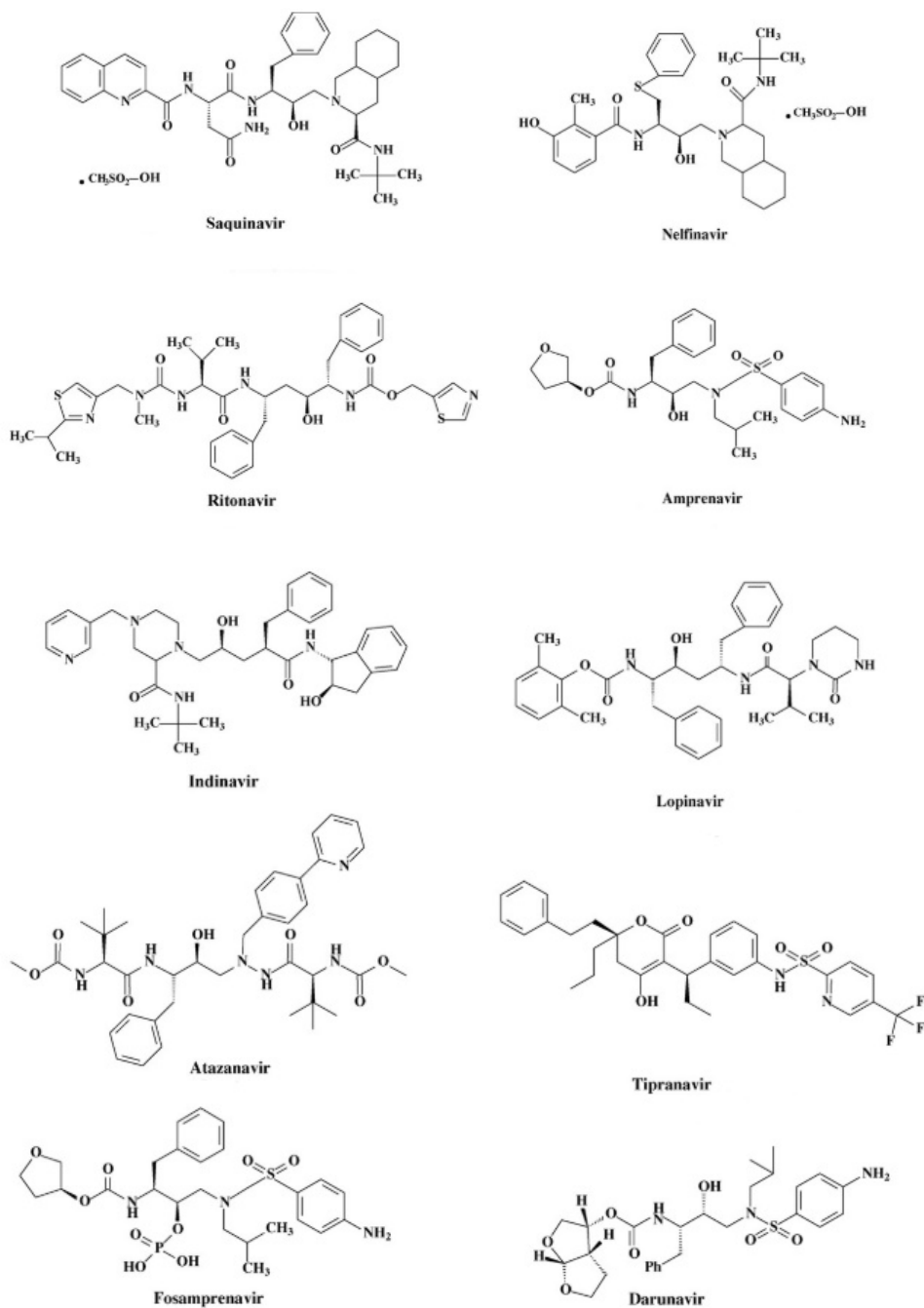


Figura 14 - Estrutura química dos PI aprovados, incluindo os utilizados na infecção por VIH-1, (Adaptado de De Clercq, 2009).

Os PI foram desenvolvidos de forma a mimetizar o substrato natural da protease. O mecanismo de ação destes fármacos consiste na interação do grupo hidroxilo do local ativo da enzima e o grupo carboxílico do inibidor (Wang et al., 2015).

Os únicos fármacos desta classe clinicamente ativos para o VIH-2 em concentrações seguras são o LPV, SQV e DRV (Raugi et al., 2016).

O SQV foi o primeiro destes PI a ser aprovado em 1995 pela FDA e em 1996 pela EMA (EMA, 2018a; Wang et al., 2015). O precursor deste fármaco inclui uma prolina no local P1' e uma fenilalanina em P1. O princípio desta estratégia tem por base o facto de as proteases virais serem capazes de clivar os substratos entre uma fenilalanina e uma prolina enquanto as proteases de mamíferos não são capazes de clivar substratos que contenham uma prolina na posição P1'. No entanto, na estrutura final a prolina foi substituída por um grupo z(S, S,S)-decahidroisoquinolina-3-carbonil (DIQ) para aumentar a potência inibitória do fármaco. O carbonil do grupo DIQ é responsável pela ligação deste PI à protease (Wang et al., 2015).

Em 2000 pela FDA e 2001 pela EMA foi aprovado o LPV/r, uma combinação de LPV e RTV num único comprimido (EMA, 2017c; Wang et al., 2015). O centro ativo do fármaco é composto por um isómero dipéptico hidroxietileno, tal como no RTV. O local P2 contém um grupo fenoxiacetil e um grupo 2-isopropiltiazol no local P2'. Em geral estes grupos são mais pequenos que os existentes no RTV, o que permite diminuir o contacto com os resíduos altamente variáveis na posição 82. Esta alteração permitiu ainda o aumento da potência inibitória desta co-formulação (Wang et al., 2015).

O DRV foi o último PI a ser aprovado, datando de 2006 pela FDA e 2007 pela EMA (EMA, 2014; Wang et al., 2015). A estrutura deste fármaco é muito semelhante à do APV. A diferença encontra-se a nível do local P2, onde o grupo tetrahydrofurano foi substituído pelo grupo bis-tetrahydrofurano. Esta mudança permite que o DRV possua mais ligações por pontes de hidrogénio, através das quais este fármaco se liga à enzima, aumentando assim o seu tempo de ligação quando comparado com os outros PI. Consequentemente esta alteração está na base da maior barreira genética que este fármaco apresenta, ou seja, a menor tendência para o desenvolvimento de resistências aos antirretrovirais quando comparado com outros PI. (Wang et al., 2015).

Em Portugal existem diversas formulações destes fármacos, como pode ser observado no anexo III.

5.1.4. Inibidores de Transferência de Cadeia da Integrase (INSTI)

A Classe dos INSTI é a mais recente e é composta por quatro fármacos, o Raltegravir (RAL), o Elvitegravir (EVG), o Dolutegravir (DTG) e mais recentemente o Bictegravir (BIC), aprovado em 2018 na co-formulação Biktarvy® (BIC/FTC/TAF) (EMA, 2018).

Todos apresentam como alvo a transferência da cadeia, que corresponde ao segundo passo mediado pela IN. Estes inibidores possuem como mecanismo de ação a ligação a um complexo específico formado pela integrase, pelo DNA viral, pela interação com os dois íons magnésio utilizados como cofatores no local ativo da enzima e ainda com o DNA da célula hospedeira (Arts et al., 2012; De Clercq, 2009; Zhang, 2018). Estes fármacos possuem alta potência com rápida redução do número de cópias virais, boa tolerância, perfil de segurança favorável e poucas interações fármaco-fármaco significativas (Blanco, Whitlock, Milinkovic, & Moyle, 2015). A estrutura destes fármacos, assim como as regiões responsáveis pela interação com a IN podem ser observadas na figura 15.

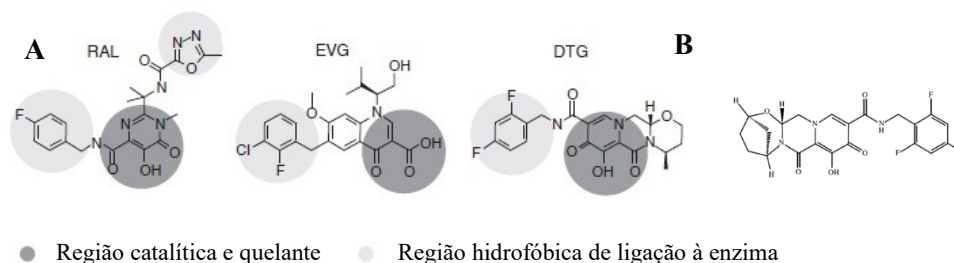


Figura 15 - (A) Estrutura química do RAL, EVG e DTG e identificação das regiões catalítica e hidrofóbica destes fármacos, responsáveis pela interação com o local ativo da enzima, (Adaptado de (Llibre et al., 2015)). (B) Estrutura química do BIC, (Adaptado de Markham, 2018).

Atualmente todos os INSTI são utilizados na infecção por VIH-2, uma vez que todos se mostraram ativos para este vírus.

O RAL foi aprovado pela FDA e pela EMA em 2007 (Blanco et al., 2015; EMA, 2017b) e atua deslocando a cadeia de DNA do local ativo da enzima (Métifiot, Marchand, Maddali, & Pommier, 2010). Consiste num análogo do ácido dicetónico e contém um grupo β -hidroxi cetona e um grupo halobenzil. O primeiro grupo mencionado é responsável pela quelação do catião metálico divalente do domínio catalítico da enzima enquanto o segundo assume a posição do anel de purina do resíduo 3' desoxiadenuilato (Engelman, 2019; Mbisa, Martin, & Cane, 2011).

O EVG aprovado pela FDA em 2012 e pela EMA em 2013, existe atualmente apenas nas co-formulações (Stribild® (Elvitegravir + Cobicistato + Emtricitabina + Tenofovir) e Genvoya® (Elvitegravir + Cobicistato + Emtricitabina + Tenofovir alafenamida)) (EMA, 2013; Zhang, 2018). É um fármaco estruturalmente semelhante aos antibióticos da classe

das quinolonas e tal como o RAL contém o grupo β -hidroxicetona e grupo halobenzil atuando da mesma forma. À semelhança dos PI necessita de um potenciador, neste caso o cobicistato (Mbisa et al., 2011; Park, Mohamed, Kalabalik, & Sharma, 2015).

O DTG foi aprovado pela FDA em 2013 e pela EMA em 2014 (EMA, 2017d; Zhang, 2018). Pertence à segunda geração dos fármacos desta classe e possui alterações a nível da estrutura como o aumento do tamanho do espaçador entre os grupos halobenzil e o grupo quelante do metal catiónico e o aumento do número de anéis centrais, o que permite uma maior ocupação do local ativo da enzima (Engelman, 2019).

Observam-se no anexo IV, as formulações disponíveis em Portugal contendo INSTI.

5.1.5. Inibidor da Fusão (IF)

Existe apenas um IF, a Enfuvirtida (T20), que consiste num polipéptido com 36 aminoácidos que se liga ao domínio HR1 da glicoproteína 41 do VIH-1 responsável pela fusão da membrana celular com o invólucro viral. Alterações neste domínio, nomeadamente nos aminoácidos 35 a 46 têm demonstrado diminuição da suscetibilidade do vírus a este fármaco. Apesar da Enfuvirtida ser ativa para o VIH-1, sabe-se que para o VIH-2 a sua atividade se encontra diminuída devido à elevada variabilidade genética no domínio HR1 e à alteração de dois aminoácidos nas posições 42 e 43, alterando a sequência de GIVQQQNLL no VIH-1 para GIVQQQQLL no VIH-2 (De Clercq, 2009; Poveda, Rodes, Toro, & Soriano, 2004).

5.1.6. Inibidor da Entrada (IE)

Tal como na classe anterior, também para esta existe apenas um fármaco, o Maraviroc, aprovado em 2007 pela FDA. Este fármaco é um antagonista do coreceptor CCR5 impedindo a ligação da gp120/gp105 ao mesmo e assim a entrada do VIH-1 e VIH-2 na célula hospedeira (De Clercq, 2009).

6. Terapêutica para a infeção por VIH-2

Não existe ainda uma cura para a infeção por VIH, mas a TARc tem contribuído significativamente para a diminuição da morbilidade e da mortalidade dos indivíduos infetados. A terapêutica antirretroviral tem como fator condicionante à sua eficácia a

adesão por parte dos indivíduos infetados, condicionada pelo facto dos fármacos envolvidos possuírem risco considerável de efeitos adversos e ter de ser efetuada diariamente ao longo da vida destes indivíduos.

No caso de infeção por VIH-2 não se aplica o princípio do tratamento para todos, ou seja, de que todos os indivíduos infetados devem ser tratados independentemente da sua contagem de células CD4+ no momento do diagnóstico, como acontece na infeção por VIH-1. Assim, só está recomendado iniciar tratamento nos indivíduos infetados por VIH-2 se estes se encontrarem em período sintomático, se a sua carga viral for superior a 100 cópias/ml em duas determinações consecutivas, separadas por um mínimo de 4 semanas ou em indivíduos cuja contagem de células CD4+ seja inferior a 350 células/mm³ (Guerreiro et al., 2016).

As opções terapêuticas são mais restritas para a infeção por VIH-2 do que para a infeção por VIH-1, uma vez que todos os fármacos são desenhados e desenvolvidos com o objetivo de controlar a infeção por VIH-1, que é o responsável pela pandemia atual (Peeters, Jung, & Ayoub, 2013; Simon et al., 2006).

As últimas recomendações portuguesas (Guerreiro et al., 2016) indicam para regime de primeira linha um Inibidor da Protease potenciado com Ritonavir (PI/r) ou um INSTI em combinação com dois NRTI, encontrando-se assim de acordo com as recomendações internacionais (European AIDS Clinical Society, 2019). No entanto, as últimas recomendações portuguesas, datam de 2016, pelo que não contemplam todos os fármacos disponíveis ao dia de hoje. Os NRTI recomendados para o tratamento da infeção por VIH-2, segundo as orientações nacionais são: ABC, 3TC, FTC, TDF (Guerreiro et al., 2016). O TAF e a AZT podem ser também utilizados para o tratamento apesar de não fazerem parte das recomendações portuguesas atuais, uma vez que o TAF foi aprovado apenas em 2017 pela EMA o que é posterior à publicação das recomendações (EMA, 2017e) e a Zidovudina está em desuso devido à elevada toxicidade a que está associada, nomeadamente anemia e neutropénia. No entanto, em determinadas situações há necessidade de ser utilizado em terapêuticas de resgate (McLeod & Hammer, 1992). Estando assim recomendadas nos NRTI as combinações Tenofovir (TDF)/Emtricitabina (FTC) e Abacavir (ABC)/Lamivudina (3TC). Nos PI incluem-se o LPV, SQV e DRV, únicos fármacos desta classe que se mostraram clinicamente ativos para a infeção por VIH-2 (Raugi et al., 2016). No caso dos INSTI estão indicados o Raltegravir (RAL), Dolutegravir (DTG) e o Elvitegravir potenciado com cobicistato (ELV/c).

7. Classificação das mutações associadas a resistência

Existem dois tipos de mutações associadas a resistência aos antirretrovirais, as mutações *major* e as mutações *minor*. As mutações *major* são responsáveis por si só pela redução da suscetibilidade aos antirretrovirais, enquanto que as mutações *minor* não conferem resistência aos fármacos, mas melhoram a capacidade de adaptação e de replicação do vírus, na presença do fármaco. Uma mutação poderá ser ao mesmo tempo *major* ou *minor* consoante o fármaco em questão (Blanco et al., 2015).

Estas mutações podem ser adquiridas sob pressão farmacológica ou transmitidas nas estirpes virais que infetam um indivíduo num dado momento. As Mutações associadas a Resistência Adquiridas (ADRM) resultantes de falência terapêutica têm vindo a diminuir ao longo dos últimos anos. Este facto tem por base a existência de melhores fármacos e consequentemente melhores regimes terapêuticos, assim como melhores meios de monitorização e deteção precoce da falência terapêutica. Pelo contrário, as Mutações de Resistência Transmitidas (TDRM) têm vindo a aumentar e são observadas em todos os países onde os testes de resistência aos antirretrovirais são realizados na altura do diagnóstico. No entanto, a sua prevalência varia ao longo do tempo e de país para país (Günthard et al., 2019). A taxa de resistência transmitida (TDR) é muito preocupante atualmente, com ênfase nos países em vias de desenvolvimento, onde se prevê que a TDR venha a aumentar e represente um problema *major*, uma vez que, por falta de recursos, os testes de resistência não são efetuados antes do início dos regimes terapêuticos (De Pina-Araujo, Guimarães, Bello, Vicente, & Morgado, 2014; Wittkop et al., 2011).

8. Mutações associadas a resistência aos antirretrovirais na infecção por VIH-2

De forma a monitorizar a emergência de resistência aos antirretrovirais foi implementada, no final dos anos 90, a realização de teste de resistência aos antirretrovirais. Inicialmente os testes de resistência aos antirretrovirais eram realizados apenas quando os indivíduos se encontravam em situação de falência terapêutica, mas mais tarde passaram também a ser realizados no momento de escolha do tratamento inicial da infecção por VIH. Estes testes genotípicos permitem determinar o genótipo do vírus, ou seja, permitem sequenciar o seu genoma em regiões específicas. Os testes de resistência aos antirretrovirais devem permitir sequenciar as regiões do gene *pol* que codificam para a RT, PR e IN, enzimas víricas que são o alvo terapêutico dos fármacos atualmente recomendados para o

tratamento da infecção por VIH (European AIDS Clinical Society, 2019; Guerreiro et al., 2016; Günthard et al., 2019).

As principais mutações conhecidas e associadas a resistência aos NRTI, PI e INSTI utilizados nos esquemas terapêuticos para tratamento da infecção por VIH-2 encontram-se descritas na tabela 1. Nesta tabela é também evidenciado o grau de resistência que as mesmas conferem e os fármacos cuja atividade é afetada por estas.

Tabela 1 - Mutações associadas a resistência de alto grau e grau intermédio aos NRTI, PI e INSTI utilizados no tratamento da infecção por VIH-2, (Adaptado de Berzow et al., 2020).

Fármacos	Mutações associadas a alto grau de resistência	Mutações associadas a grau intermédio de resistência
ABC	K65R Q151M M184V/I + (L74V ou Y115F)	2 das D67N, K70R/N, M184V/I, S215A/C/F/L/Y
3TC/FTC	M184V/I	K65R
TDF/TAF	K65R Q151M + V111I	
AZT	Q151M S215A/C/F/L/Y + 1 das (N69S/T, K70R, Y115F, K223R)	S215A/C/F/L/Y
LPV	V47A I54M 2 das I82F, I84V, L90M	V62A + L99F 1 das I82F, I84V, L90M
DRV	I50V I54M I84V + L90M	1 das I84V, L90M
SQV	G48V L90M	I84V
RAL	N155H/R Q148H/K/R E92Q ou T97A + Y143C/G/R E92Q + T97A	E92Q Y143C/G/R
EVG	E92Q/G Q148H/K/R N155H T97A + Y143C	Y143C

DTG/BIC	G140S + Q148H/R Q148K E92Q ou T97A + N155H	E92Q Q148H/R N155H T97A+ Y143C
---------	--	---

Capítulo II – Objetivos

O objetivo primário deste trabalho é descrever a evolução da resistência transmitida e adquirida aos antirretrovirais utilizados no tratamento da infeção por VIH-2, entre 1996 e 2019, em Portugal.

Como objetivo secundário, pretende-se identificar as mutações associadas a resistência aos antirretrovirais usados no tratamento de indivíduos infetados por VIH-2.

Capítulo III – Materiais e Métodos

1. População

A população estudada foi selecionada a partir da base de dados RegaDB VIH-2 (Libin et al., 2013) existente no Laboratório de Biologia Molecular, do Hospital Egas Moniz (Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental-CHLO). Os dados analisados foram recolhidos para uma base de dados em Excel e posteriormente analisados pelo software IBM SPSS Statistics 25.

A população analisada é composta por 2083 indivíduos infetados por VIH-2. Destes, 530 apresentavam um teste de genotipagem para determinar a resistência aos antirretrovirais. A população foi dividida em indivíduos tratados e não-tratados com antirretrovirais, à data do primeiro teste de resistência, através da comparação da data de início da terapêutica e da data do primeiro teste de genotipagem. Deste modo, o estudo contempla 228 indivíduos tratados e 302 não-tratados.

A idade utilizada para a caracterização sociodemográfica foi calculada à data da realização do teste de resistência, uma vez que para muitos indivíduos se desconhece a data de diagnóstico da infeção. Deste modo, na população global a mediana de idade foi calculada para os 530 indivíduos com testes de resistência e não para os 2083 indivíduos que perfazem a população total.

2. Determinação do grupo de infeção VIH-2

O grupo do VIH-2 responsável pela infeção dos indivíduos da população foi identificado com recurso à plataforma EU HIV-2 Internet Tool v. 08/2015, ferramenta do HIV-GRADE e.V. Algorithm e à base de dados RegaDB VIH-2, do Laboratório de Biologia Molecular, do Hospital de Egas Moniz (CHLO), através da ferramenta RegaDB subtyping tool.

3. Descrição da evolução da resistência transmitida e adquirida aos antirretrovirais

A descrição estatística da evolução ao longo do tempo da TDR e ADR aos antirretrovirais foi realizada com recurso ao software IBM SPSS Statistics 25, através de uma regressão logística binária. Neste âmbito descreveu-se também a tendência da resistência aos NRTI e PI. Consideram-se variáveis com significância estatística aquelas com $p_{tendência} < 0,05$.

4. Análise de mutações associadas a resistência aos antirretrovirais

A identificação das mutações existentes nas sequências disponíveis, para as regiões do gene da RT, PR e IN foi realizada com recurso ao EU HIV-2 Internet Tool v. 08/2015, ferramenta do HIV-GRADE e.V. Algorithm.

Antes da identificação das mutações, procedeu-se à seleção das mutações com impacto relevante na terapêutica do VIH-2. Assim, foram selecionados artigos relevantes e foi cruzada a informação contida nos mesmos. Chegou-se então a consenso que para os NRTI as principais mutações associadas a resistência, a ter em conta seriam: M184V/I, K65R, Q151M e S215A/C/F/L/Y (Bártolo et al., 2018; Berzow et al., 2020; Charpentier et al., 2015; Gottlieb et al., 2018; Visseaux et al., 2016). No caso das mutações que conferem resistência aos PI usados na infecção por VIH-2 seriam: G48V, V47A, I50V, I54M, L90M, I82F e I84V (Berzow et al., 2020; Charpentier et al., 2015; Gottlieb et al., 2018; Menéndez-Arias & Álvarez, 2014; Visseaux et al., 2016) e no que respeita aos INSTI as mutações associadas a resistência a serem selecionadas seriam: N155H/R, Q148K/R, E92Q/G, T97A, Y143C/G/R e G140S (Berzow et al., 2020; Charpentier et al., 2015; Gottlieb et al., 2018; Mesplède & Wainberg, 2015).

Capítulo IV – Resultados

1. Caracterização sociodemográfica e clínica da população estudada

A população global analisada é composta por 2083 indivíduos, dos quais 1165 (55,9%) são do sexo feminino e 879 (42,2%) são do sexo masculino. Existem ainda 39 indivíduos para os quais não foi possível identificar o género (1,9%). Quanto à idade dos indivíduos VIH-2 positivos, à data do teste de resistência (TR) aos antirretrovirais obteve-se uma mediana igual a 50 anos (devido ao reduzido n da população todos os indivíduos com esta informação foram incluídos abrangendo-se idades entre 0 e os 86 anos). Relativamente à via de transmissão verificou-se que a informação disponível é escassa para esta população, sendo que apenas se conhece a mesma para 18 indivíduos dos 2083 que a constituem. No entanto, a partir destes dados, verificou-se que a principal via de transmissão identificada foi a via sexual, principalmente o contacto heterossexual (n=10, 0,5%), seguida de transmissão vertical (n=5, 0,2%) e a transfusão sanguínea (n=3, 0,1%). As características sociodemográficas e clínicas da população estudada podem ser consultadas na tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização sociodemográfica e clínica da população estudada.

	População global	Indivíduos não-tratados com Teste de Resistência	Indivíduos tratados com Teste de Resistência
Total, n (%)	2083 (100,0)	302 (14,5)	228 (10,9)
Género, n (%)			
Feminino	1165 (55,9)	179 (59,3)	107 (46,9)
Masculino	879 (42,2)	123 (40,7)	121 (53,1)
Desconhecido	39 (1,9)	0	0
Idade à data do Teste de Resistência (anos), mediana (amplitude)			
Resistência (anos), mediana (amplitude)	50 (0-86)*	51 (0-83)	49 (0-86)
0-15, n (%)	22 (4,2)*	15 (5,0)	7 (3,1)
16-30, n (%)	33 (6,2)*	19 (6,3)	14 (6,1)
31-45, n (%)	139 (26,2)*	77 (25,5)	62 (27,2)
46-60, n (%)	227 (42,8)*	123 (40,7)	104 (45,6)
>61, n (%)	96 (18,1)*	62 (20,5)	34 (14,9)

Via de Transmissão, n (%)			
Heterossexual	10 (0,5)	4 (1,2)	4 (1,8)
Vertical	5 (0,2)	2 (0,7)	1 (0,4)
Transfusão sanguínea	3 (0,1)	2 (0,7)	0
Desconhecida	2065 (99,1)	294 (97,4)	223 (97,8)
Região de origem, n (%)			
Europa	228 (10,9)	29 (9,6)	37 (16,2)
Portugal	222 (10,7)	29 (9,6)	37 (16,2)
Outros**	6 (0,3)	0	0
África	541 (26,0)	114 (37,7)	86 (29,9)
Guiné-Bissau	352 (16,9)	71 (23,5)	53 (23,2)
Cabo Verde	107 (5,1)	23 (7,6)	23 (10,1)
Guiné	37 (1,8)	12 (4,0)	4 (1,8)
Angola	23 (1,1)	1 (0,3)	3 (1,3)
São Tomé e Príncipe	11 (0,5)	3 (1,0)	1 (0,4)
Moçambique	6 (0,3)	0	1 (0,4)
Outros**	5 (0,2)	2 (0,7)	1 (0,4)
América do Sul (Brasil)	2 (0,1)	2 (0,7)	0
Grupo de VIH-2, n (%)			
A	530 (100,0)	302 (100,0)	228 (100,0)
Contagem células CD4			
(células/μL)			
Mediana (IQR; Amplitude)	427 (190,5-671,0;41-2921)	424,5 (217,5-607,8;86-1430)	186 (93,0-311,0;44-2300)
Carga viral (log)			
Mediana (IQR, Amplitude)	<1,60 (<1,60-2,30;<1,60-6,42)	2,60 (1,95-3,56;<1,60-5,28)	2,37 (<1,60-3,61;<1,60-5,72)

* A mediana de idade foi calculada para 530 indivíduos com testes de resistência e não para os 2083 indivíduos que integram a população global, uma vez que, por não se ter acesso à data de diagnóstico se calculou a idade à data do teste de resistência.

** Países com um n inferior a 5 foram agrupados e colocados em Outros. Estão incluídos em Outros na população global e na Europa: Reino Unido (n=3), Alemanha (n=2) e Hungria (n=1) e em África: Gâmbia (n=1), República do Níger (n=1), Senegal (n=2) e República Democrática do Congo (n=1). Nos indivíduos não-tratados inclui-se neste grupo em África: República Democrática do Congo (n=1) e Gâmbia (n=1) e nos indivíduos tratados está incluído em África, o Senegal (n=1).

Dos 2083, 530 indivíduos apresentavam sequências genómicas de TR sendo que 302 indivíduos foram classificados como não-tratados (57,0%), uma vez que nunca tinham

realizado terapêutica com antirretrovirais e 228 indivíduos como tratados (43,0%) por já se encontrarem a realizar terapêutica com antirretrovirais. Da população global, existem 1553 indivíduos que não foi possível classificar (74,6%) como não-tratado ou tratado, por não possuírem sequências genómicas relativas ao TR e consequentemente sem informação da história terapêutica.

O grupo dos indivíduos não-tratados é composto por 179 indivíduos (59,3%) do sexo feminino e 123 (40,7%) do sexo masculino. A mediana da idade à data do TR é de 51 anos (como já foi referido, devido ao reduzido n da população todos os indivíduos com esta informação foram incluídos abrangendo-se idades entre 0 e os 83 anos). Verificou-se que a principal via de transmissão é o contacto heterossexual (n=4, 1,2%), seguida da transfusão sanguínea (n=2, 0,7%) e da transmissão vertical (n=2, 0,7%) (tabela 2). No entanto, a informação sobre este parâmetro é escassa existindo 294 (97,4%) indivíduos para os quais não se conhecem dados.

Em relação aos indivíduos tratados, este grupo é composto por 107 indivíduos (46,9%) do sexo feminino e 121 (53,1%) do sexo masculino. A mediana da idade à data do TR é de 49 anos (mais uma vez, devido ao reduzido n da população todos os indivíduos com esta informação foram incluídos abrangendo-se idades entre 0 e os 86 anos). À semelhança dos indivíduos não-tratados e da população global também para este grupo a principal via de transmissão é o contacto heterossexual (n=4, 1,8%), seguido da transmissão vertical (n=1, 0,4%) (tabela 2). Não existem, no entanto, casos identificados de doentes cuja via de transmissão tenha sido a transfusão sanguínea e tal como já mencionado anteriormente os dados são escassos, uma vez que não se tem informação sobre a via de transmissão para 223 (97,8%) indivíduos.

No que diz respeito ao país de origem, verificou-se que, para a população global, a maioria dos indivíduos infetados por VIH-2 era proveniente da Guiné-Bissau (n=352, 16,9%), Portugal (n=222, 10,7%) e Cabo Verde (n=107, 5,1%). Nos indivíduos não-tratados verificou-se que a maioria era também proveniente destes países (Guiné-Bissau (n=71, 23,5%), Portugal (n=29, 9,6%) e Cabo Verde (n=23, 7,6%)) assim como para os indivíduos tratados (Guiné-Bissau (n=53, 23,2%), Portugal (n=37, 16,2%) e Cabo Verde (n=23, 10,1%)) (tabela 2). Existem ainda indivíduos oriundos de outros países africanos, sendo África a região com maior percentagem de casos identificados. Existem também indivíduos oriundos da Alemanha, Hungria, Reino Unido e Brasil, perfazendo estes 0,4% (tabela 2). No entanto, para a população global, existem 1312 (63,0%) indivíduos para

quais não existe informação sobre a região de origem (gráfico 1), o que também se verifica no grupo dos não-tratados para 157 (52,0%) indivíduos e dos tratados para 105 (46,1%) indivíduos.

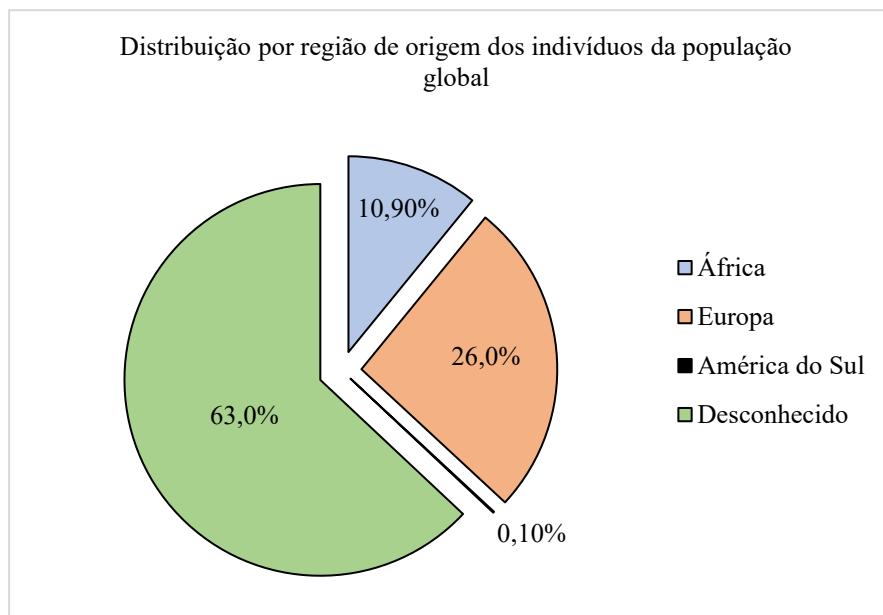


Gráfico 1 - Distribuição por região de origem dos indivíduos da população global, (Europa: Portugal, Hungria, Alemanha e Reino Unido; África: Guiné-Bissau, Guiné, Angola, Cabo Verde, Gâmbia, Moçambique, República do Níger, São Tomé e Príncipe, Senegal e República Democrática do Congo; América do Sul: Brasil).

Ao efetuar-se a subtipagem dos vírus na população estudada verificou-se que o grupo A é o único grupo de VIH-2 responsável pela infeção nesta população quer a nível global, quer nos indivíduos não-tratados e tratados (tabela 2).

Quanto aos valores de carga viral e contagem de células CD4⁺ foi selecionado o primeiro valor disponível para o indivíduo de forma a uniformizar os dados, uma vez que nem todos os indivíduos possuíam sequência genómica do TR, não podendo ser selecionados os valores mais próximos à data deste. Assim obteve-se, para a carga viral na população global, a mediana <math><1,60 \log</math>, que representa que a maioria dos indivíduos têm carga viral indetetável no momento em que os valores foram obtidos, e para a contagem de células CD4⁺ uma mediana igual a 427,0 células/ μl . Em relação aos indivíduos não-tratados e tratados, obteve-se uma mediana de carga viral de 2,60 e 2,37 log e para a contagem de células CD4⁺ uma mediana de 424,5 e 186 células/ μl , respetivamente (tabela 2).

2. Resistência transmitida

Observou-se que nos indivíduos não-tratados 4,0% (n=12, IC 95%: 2,1-6,8%) apresentam resistência transmitida aos antirretrovirais (TDR). 3,3% são resistentes aos NRTI (n=10, IC 95%: 1,6-6,0%) e 2,6% dos indivíduos são resistentes aos PI (n=8, IC 95%: 1,2-5,2%). Observou-se ainda que dos 12 indivíduos resistentes, 50% apresenta resistência a uma classe de antirretrovirais (n=6, IC 95%: 25-75%) e outros 50% apresenta resistência a duas classes de antirretrovirais (n=6, IC 95%: 25-75%). Nenhum dos indivíduos estudados apresenta resistência às três classes dos antirretrovirais (tabela 3).

Tabela 3 - Proporção de resistência transmitida entre 2007 e 2019 e de resistência adquirida entre 1998 e 2019.

		2007-2019					
		n (%)	IC 95%	Odds Ratio (OR)	Ptendência		
Não-tratados	TDR total	12 (4,0%)	2,1-6,8%	1,102 (0,939-1,295)		0,234	
	Resistência NRTI	10 (3,3%)	1,6-6,0%	1,100 (0,922-1,313)		0,290	
	Resistência PI	8 (2,6%)	1,2-5,2%	1,014 (0,843-1,220)		0,883	
	Resistência uma classe	6 (50,0%)	25,0-75,0%	1,289 (0,970-1,714)		0,080	
	Resistência duas classes	6 (50,0%)	25,0-75,0%	0,984 (0,794-1,220)		0,884	
	Resistência três classes	0					
		1998-2006			2007-2019		
		n (%)	IC 95%	Odds Ratio (OR)	Ptendência	Odds Ratio (OR)	Ptendência
Tratados	ADR total	153 (67,1%)	60,6-73,2%	0,988 (0,819-1,192)	0,900	0,975 (0,893-1,066)	0,581
	Resistência NRTI	148 (64,9%)	58,3-71,1%	1,008 (0,838-1,213)	0,931	0,973 (0,892-1,062)	0,539
	Resistência PI	95 (41,7%)	35,2-48,4%	1,076 (0,910-1,271)	0,392	0,998 (0,916-1,087)	0,964
	Resistência uma classe	63 (41,2%)	33,7-49,1%	0,904 (0,761-1,073)	0,246	0,975 (0,881-1,079)	0,625
	Resistência duas classes	90 (58,8%)	50,9-66,3%	1,095 (0,925-1,296)	0,294	0,995 (0,913-1,085)	0,908
	Resistência três classes	0					

A evolução ao longo do tempo da TDR, da resistência aos NRTI e aos PI foi analisada a partir dos dados existentes na base de dados portuguesa RegaDB VIH-2, como se pode observar pela análise do gráfico 2. Para esta análise foram excluídos os anos cujo número de indivíduos analisados era inferior a 5, o que inclui os anos de 1996 a 2006.

Observou-se assim, que todas as variáveis têm uma evolução relativamente constante, destacando-se um ligeiro aumento da TDR de 4,8% (n=1, IC 95%: 0,9-22,8%) em 2007 para 5,3% (n=1, IC 95%: 0,9-24,6%) em 2019. A resistência aos NRTI apresenta evolução paralela à TDR aumentando ligeiramente de 4,8% (n=1, IC 95%: 0,9-22,8%) em 2007 para 5,3% (n=1, IC 95%: 0,9-24,6%) em 2019 enquanto que a resistência aos PI apresenta um decréscimo de 4,8% (n=1, IC 95%: 0,9-22,8%) em 2007 para 0,0% (n=0, IC 95%: 0,0-16,8%) em 2019 (gráfico 2).

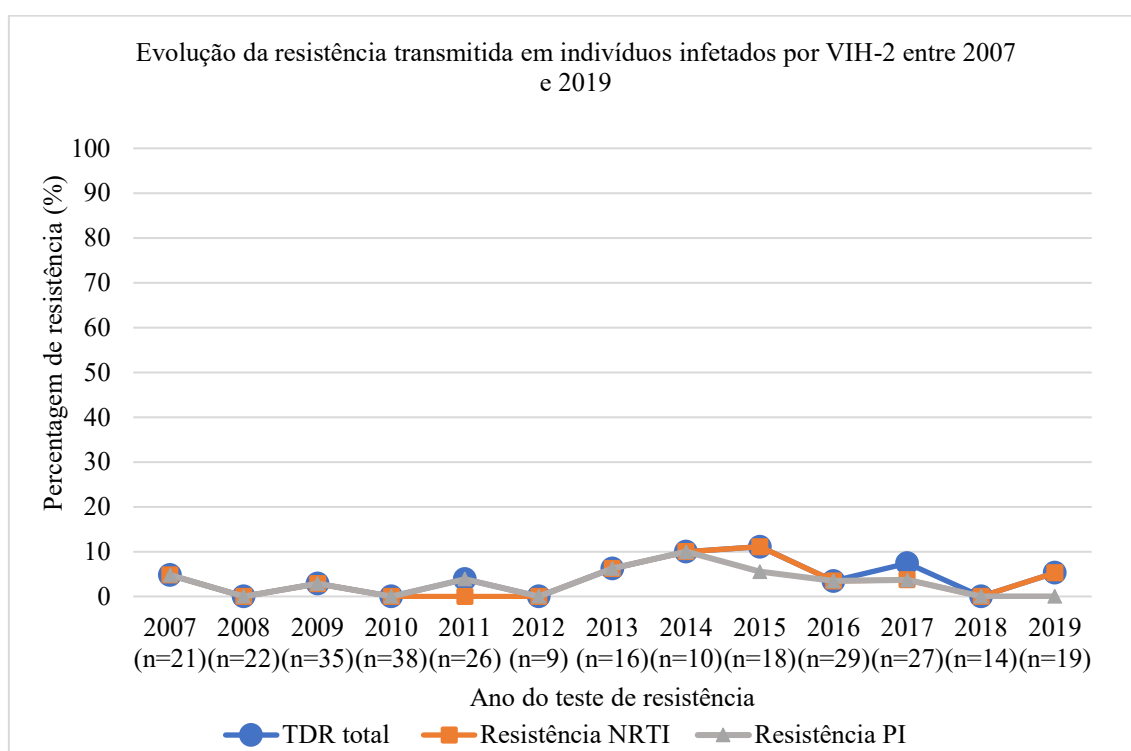


Gráfico 2 - Evolução da resistência transmitida (TDR) em indivíduos infetados por VIH-2 entre 2007 e 2019.

Paralelamente realizou-se uma análise estatística para a evolução ao longo do tempo das variáveis mencionadas acima e também para a resistência a uma classe de antirretrovirais e a resistência a duas classes de antirretrovirais. Devido ao facto de o grupo de indivíduos não-tratados ser composto por 302 indivíduos, quando fizemos uma análise por ano, o

número de indivíduos mostrou ser inferior a 40 (por cada ano) o que implica que para análises estatísticas o número é muito baixo. No entanto, os resultados foram analisados e conseqüentemente, observou-se que nenhuma variável analisada, no que diz respeito à evolução ao longo do tempo, originou um resultado com significância estatística ($p_{\text{tendência}} < 0.05$).

Como resultado desta análise e segundo os valores do OR observou-se, que a TDR total apresenta, apesar de pouco evidente, uma tendência crescente de 2007 a 2019 (OR:1,102, IC 95%: 0,939-1,295, $p_{\text{tendência}}=0,234$). Esta tendência crescente foi também observada para os NRTI (OR:1,100, IC 95%: 0,922-1,313, $p_{\text{tendência}}=0,290$). A resistência aos PI, segundo os valores de OR apresenta tendência também ligeiramente crescente (OR:1,014, IC 95%: 0,843-1,220, $p_{\text{tendência}}=0,883$). No entanto, entre 2007 e 2019, ao analisarmos o gráfico 2, em relação aos PI, verificamos que tal não se verifica, pois observa-se, tal como já foi mencionado acima um pequeno decréscimo em relação a esta classe de antirretrovirais. Tal pode ser justificado pelo facto do p tendência não ter significância estatística devido ao reduzido número de indivíduos que compõe este grupo (tabela 3, gráfico 2, anexo V) e a análise estatística ter um valor relativo uma vez que se baseia em modelos matemáticos que são por vezes de difícil ajuste aos dados existentes.

A resistência a uma classe de antirretrovirais apresenta também uma tendência crescente (OR:1,289, IC 95%: 0,970-1,714, $p_{\text{tendência}}=0,080$) entre 2007 e 2019 enquanto que a resistência a duas classes apresenta a tendência oposta, ou seja, decrescente (OR:0,984, IC 95%: 0,794-1,220, $p_{\text{tendência}}=0,884$). A resistência a três classes é inexistente neste grupo de indivíduos uma vez que não se observaram mutações de resistência aos INSTI (tabela 3, anexo V). No entanto, tal como já foi referido e se pode verificar na tabela 3, nenhuma destas análises demonstrou significância estatística.

Quanto às mutações identificadas nos indivíduos não-tratados, não foi identificada nenhuma mutação para os INSTI. No que respeita às restantes classes, nos NRTI identificou-se como mais prevalente a mutação M184V/I (2,3%, $n=7$), seguida da K65R (1,3%, $n=4$) e da Q151M (1,0%, $n=3$). Quanto aos PI as mutações mais prevalentes são a L90M (1,7%, $n=5$) e a I54M (1,0%, $n=3$), seguidas da I82F (0,7%, $n=2$), da I84V (0,7%, $n=2$), da I50V (0,3%, $n=1$) e da V47A (0,3%, $n=1$) como se pode observar no gráfico 3.

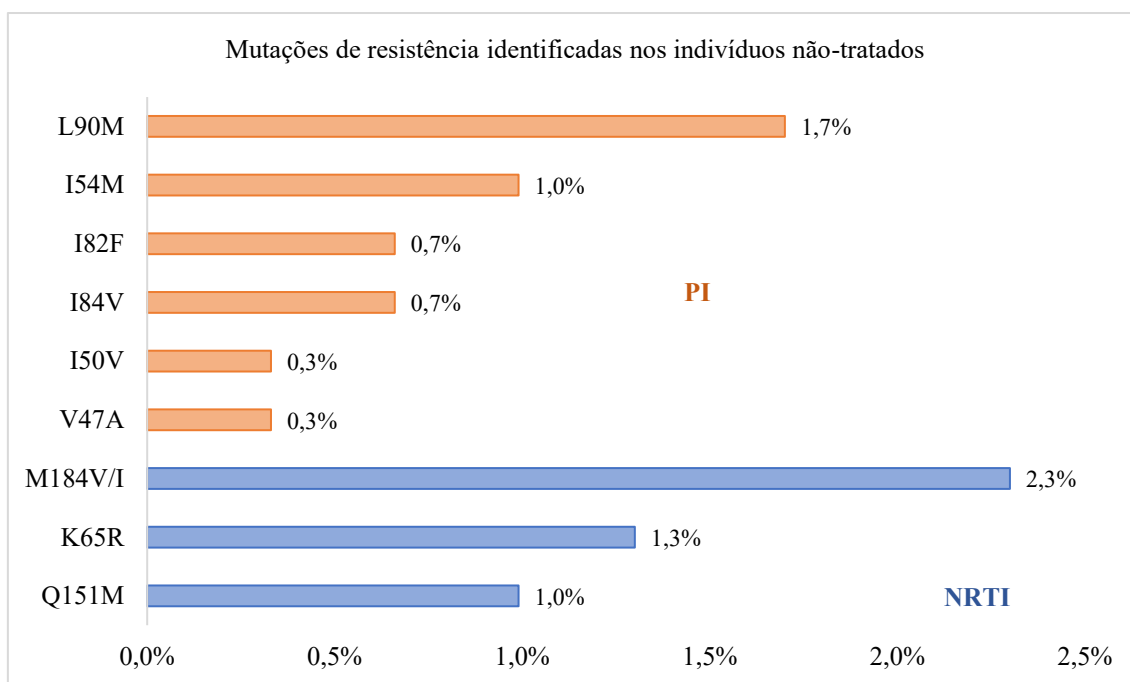


Gráfico 3 - Mutações de resistência identificadas em indivíduos não-tratados (n= 302).

3. Resistência adquirida

No grupo dos indivíduos tratados conclui-se que estes apresentam 67,1% (n=153, IC 95%: 60,6-73,2%) de resistência adquirida aos antirretrovirais (ADR). São maioritariamente resistentes aos NRTI com 64,9%, (n=148, IC 95%: 58,3-71,1%) e 41,7% (n=95, IC 95%: 35,2-48,4%) indivíduos são resistentes aos PI. Observou-se também que dos 153 indivíduos com resistência, 41,2% dos indivíduos são resistentes apenas a uma classe de antirretrovirais (n=63, IC 95%: 33,7-49,1%) e 58,8% são resistentes a duas classes de antirretrovirais (n=90, IC 95%: 50,9-66,3%), não existindo nenhum indivíduo que tenha apresentado resistência às três classes (tabela 3).

À semelhança do critério usado na análise dos indivíduos não-tratados, também neste grupo de indivíduos tratados, se excluíram os anos que possuíam menos de 5 indivíduos em análise, tendo sido excluídos os anos de 1996 e 1997. Assim, a análise foi realizada entre 1998 e 2006 por preencherem os critérios selecionados e 2007 e 2019 para comparação com os dados obtidos nos indivíduos não-tratados.

Observou-se que, entre 1998 e 2006 existem diversas oscilações nos valores de resistência adquirida, não sendo fácil afirmar a tendência da evolução da mesma. No entanto, entre 1998 e 2006 a ADR aumenta de 66,7% (n=2, IC 95%:20,8-93,9%) para 80,0% (n=16, IC 95%: 51,4-91,9%) apesar da não existência de indivíduos resistentes em 2004. A

resistência aos NRTI apresenta evolução paralela à ADR, aumentando também de 66,7% (n=2, IC 95%:20,8-93,9%) em 1998 para 80,0% (n=16, IC 95%: 51,4-91,9%) em 2006 e a resistência aos PI apresenta um ligeiro aumento de 33,3% (n=1, IC 95%: 6,2-79,2%) em 1998 para 55,0% (n=11, IC 95%: 34,2-74,2%) em 2006 (gráfico 4). Entre 2007 e 2019 pode observar-se que a ADR mantém a tendência crescente, aumentando de 64,7% (n=11, IC 95%: 41,3-82,7%) em 2007 para 83,3% (n=5, IC 95%: 43,7-97,0%) em 2019. A resistência aos NRTI mantém também o aumento já verificado no período anterior, aumentando de 64,7% (n=11, IC 95%: 41,3-82,7%) em 2007 para 83,3% (n=5, IC 95%: 43,7-97,0%) em 2019 assim como a resistência aos PI que aumenta de 35,3% (n=6, IC 95%: 17,3-58,7%) em 2007 para 50,0% em 2019 (n=3, IC 95%: 18,8-81,2%) (gráfico 5).

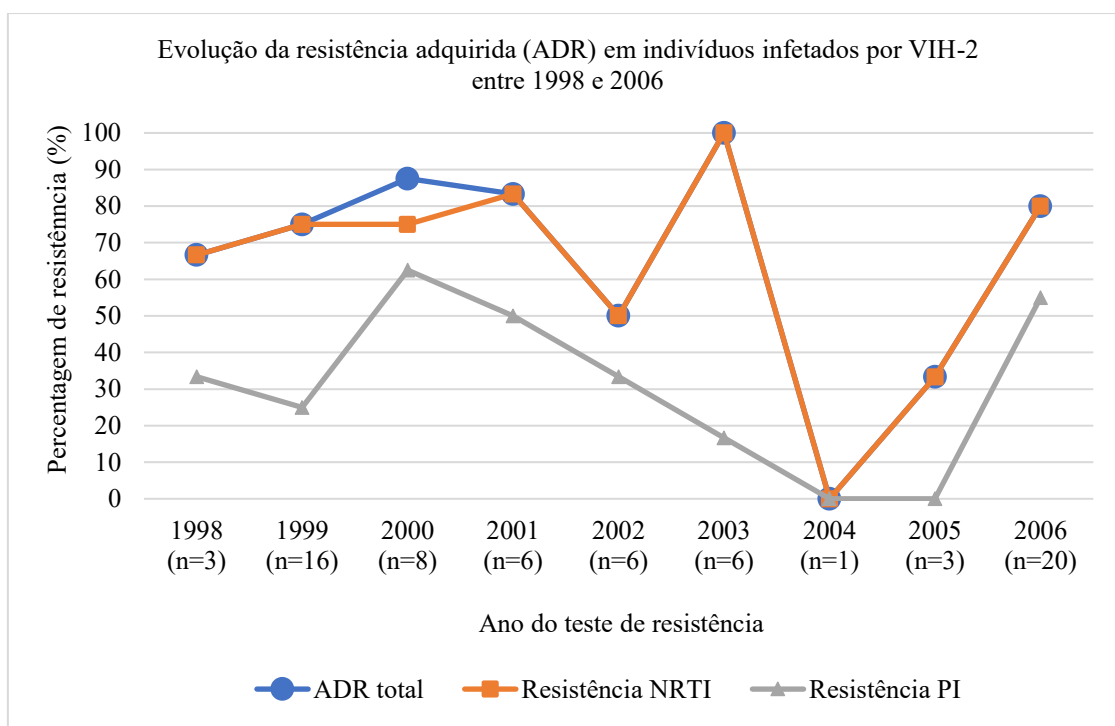


Gráfico 4 - Evolução da resistência adquirida (ADR) em indivíduos infetados por VIH-2 entre 1998 e 2006.

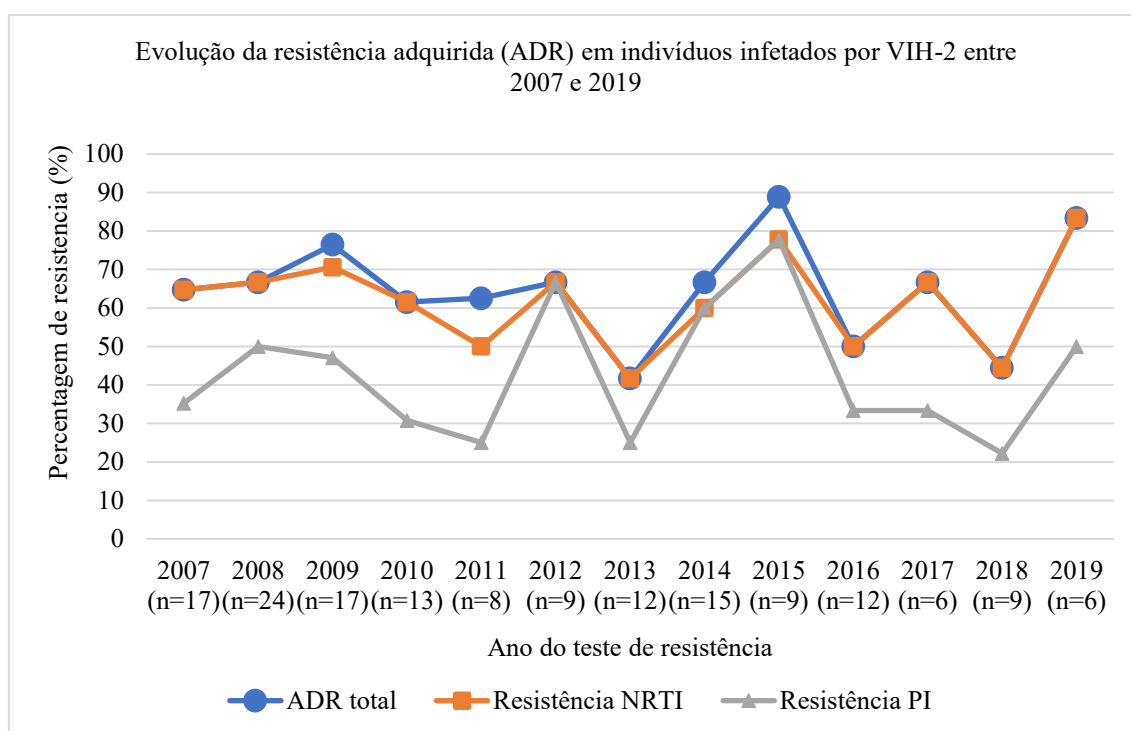


Gráfico 5 - Evolução da resistência adquirida (ADR) em indivíduos infetados por VIH-2 entre 2007 e 2019.

Tal como no grupo dos indivíduos não-tratados realizou-se paralelamente uma análise estatística de forma a estudar/analisar a evolução ao longo do tempo para as variáveis mencionadas acima e também para a resistência a uma classe de antirretrovirais e a resistência a duas classes de antirretrovirais. Devido ao facto de o grupo de indivíduos tratados ser composto por 228 indivíduos, quando fizemos uma análise por ano, o número de indivíduos mostrou ser inferior a 40 (por cada ano) o que implica que para análises estatísticas o número é muito baixo. Consequentemente, observou-se que nenhuma variável analisada, no que diz respeito à evolução ao longo do tempo, originou um resultado com significância estatística.

Observou-se como resultados desta análise e segundo os valores do OR que entre 1998 e 2006 (OR:0,988, IC 95%: 0,819-1,192, $p_{\text{tendência}}$:0,900) e entre 2007 e 2019 (OR:0,975, IC 95%: 0,893-1,066, $p_{\text{tendência}}$:0,581) a ADR apresenta tendência decrescente o que não se consegue visualizar facilmente no gráfico, uma vez que este apresenta grandes oscilações nos valores, muito devido em parte ao n que tínhamos disponível para a análise estatística ser muito baixo e também pelo facto de não se obterem valores com significância estatística. A nível das classes de antirretrovirais constata-se que a resistência aos NRTI entre 1998 e 2006 apresenta uma tendência crescente (OR:1,008,

IC 95%: 0,838-1,213; $p_{\text{tendência}}:0,931$) e entre 2007 e 2019 uma tendência decrescente (OR: 0,973, IC 95%: 0,892-1,062, $p_{\text{tendência}}:0,539$), o que também não se consegue visualizar pelos gráficos, não originando também dados com significância estatística. No caso dos PI entre 1998 e 2006 a tendência é crescente (OR:1,076, IC 95%: 0,910-1,271, $p_{\text{tendência}}:0,392$) e entre 2007 e 2019 a tendência é praticamente constante (OR:0,998, IC 95%: 0,916-1,087, $p_{\text{tendência}}:0,964$) (tabela 3, gráfico 4, gráfico 5, anexo VI). Tal como mencionada anteriormente também para este grupo de indivíduos a informação recolhida na análise gráfica e na análise estatística é díspar. Tal pode ser justificado pelo facto do p tendência sem significância estatística devido ao reduzido número de indivíduos que compõe este grupo (tabela 3, gráfico 2, anexo V) e a análise estatística ter um valor relativo uma vez que se baseia em modelos matemáticos que são por vezes de difícil ajuste aos dados existentes.

A resistência a uma classe de antirretrovirais apresenta uma tendência decrescente entre 1998 e 2006 (OR:0,904, IC 95%: 0,761-1,073, $p_{\text{tendência}}:0,246$) que se mantém entre 2007 e 2019 (OR:0,975, IC 95%: 0,881-1,079, $p_{\text{tendência}}:0,625$), apresentando um p tendência não ter significância estatística. A resistência a duas classes de antirretrovirais em simultâneo, apesar de pouco evidente, apresenta uma tendência crescente entre 1998 e 2006 (OR:1,095, IC 95%: 0,925-1,296, $p_{\text{tendência}}:0,294$) e uma tendência decrescente entre 2007 e 2019 (OR:0,995, IC 95%: 0,913-1,085, $p_{\text{tendência}}:0,908$) (tabela 3, anexo VI). A resistência antirretroviral a três classes em simultâneo não se verifica neste grupo de indivíduos, uma vez que apenas 2 (0,9%, 95% IC: 0,24-3,14%) apresentam mutações resistência aos INSTI e esses não possuem mutações de resistência para as restantes classes. No entanto, e tal como já foi referido, nenhuma destas análises deu resultados com significância estatística.

Em relação às mutações de resistência encontradas para os indivíduos tratados, observaram-se mutações para os NRTI, PI e INSTI. Nos NRTI, a mutação com maior relevância foi a M184V/I (57,9%, n=132), seguida da Q151M (18,4%, n=42) e da K65R (15,4%, n=35). Nos PI foram identificadas as mutações L90M (26,3%, n=60), que é a mais prevalente, seguida da I54M (14%, n=32), da I50V (7,9%, n=18), da V47A (5,7%, n=13), da I82F (3,5%, n=8), e da I84V (1,8%, n=4). Quanto às mutações de resistência nos INSTI as únicas mutações detetadas são a E92Q (0,9%, n=2) e a N155H (0,9%, n=2) como se pode verificar no gráfico 6.

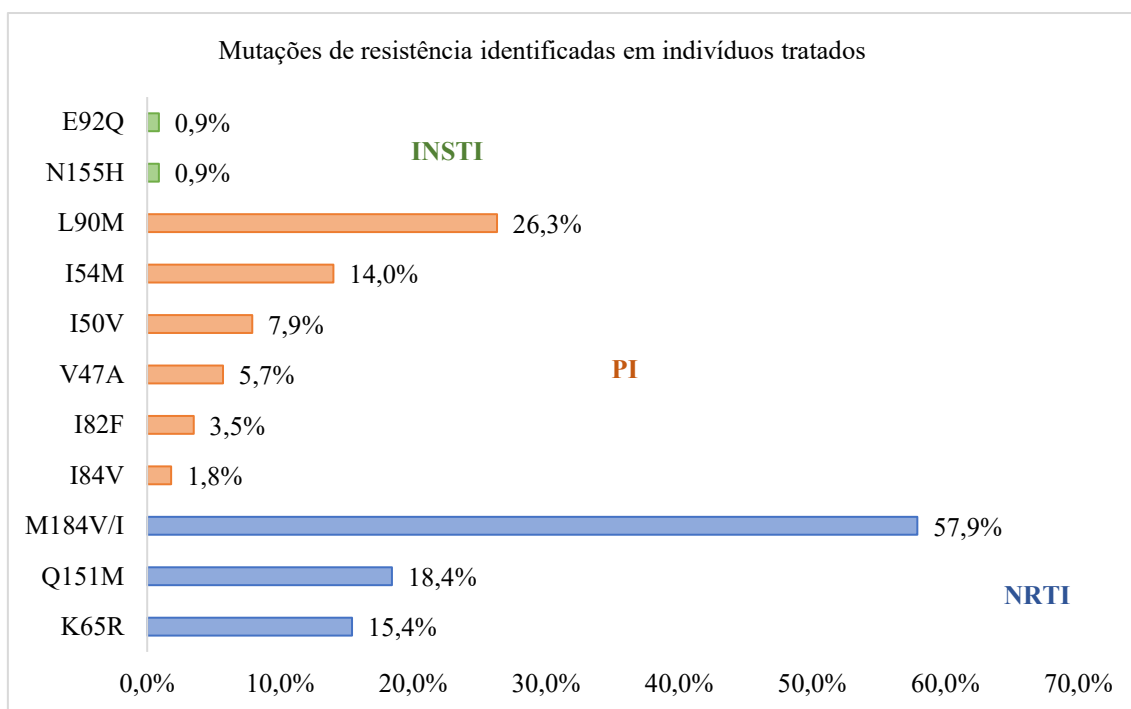


Gráfico 6 - Mutações de resistência identificadas em indivíduos tratados (n=228).

4. Suscetibilidade farmacológica

Dos 302 indivíduos não-tratados, 4,0% (n=12) apresentam mutações associadas a resistência. Assim, determinou-se a proporção das mutações de resistência de alto grau e grau intermédio para os fármacos utilizados no tratamento da infeção por VIH-2 presentes nestes indivíduos, que podem ser observadas no gráfico 7.

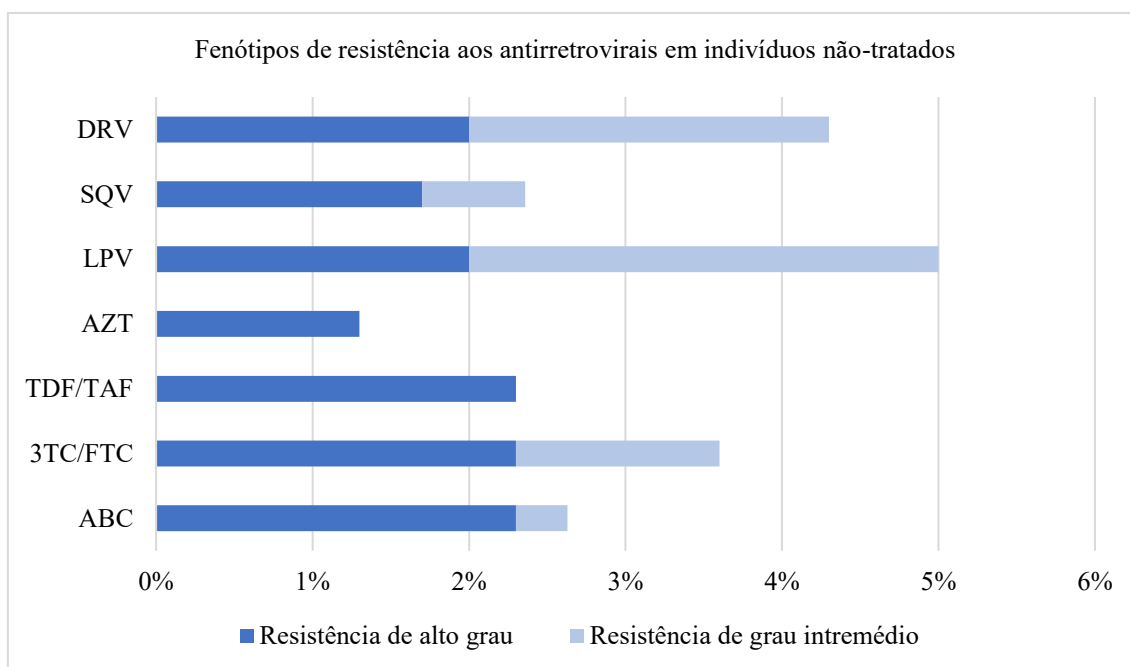


Gráfico 7 - Fenótipos de resistência aos antirretrovirais utilizados para o tratamento da infeção por VIH-2 em indivíduos não-tratados.

Neste grupo, observou-se que, para os NRTI, a resistência de alto grau para o Abacavir (ABC), a Lamividina (3TC), a Emtricitabina (FTC), o Tenofovir (TDF) e o Tenofovir alafenamida (TAF) está presente em 2,3% (n=7) dos indivíduos estudados, sendo menor para a Zidovudina (AZT) (1,3%, n=4). 0,3% (n=1) e 1,3% (n=4) dos indivíduos apresentam resistência de grau intermédio ao ABC e à 3TC/FTC, respetivamente. Nos PI, o Darunavir (DRV) e o Lopinavir (LPV) são os fármacos para os quais maior número de indivíduos apresenta resistência de alto grau (2%, n=6) e resistência de grau intermédio, com 2,3% (n=7) e 3,0% (n=9), respetivamente. A resistência de alto grau ao Saquinavir (SQV) está presente em 1,7% (n=5) dos indivíduos e 0,7% (n=2) dos indivíduos apresentam resistência de grau intermédio a este fármaco (gráfico 7).

Dos 228 indivíduos tratados, 67,1% (n=153) apresentam mutações associadas a resistência, tendo sido para estes também estimada a proporção da resistência de alto grau e resistência de grau intermédio aos antirretrovirais, que podem ser observadas no gráfico 8.

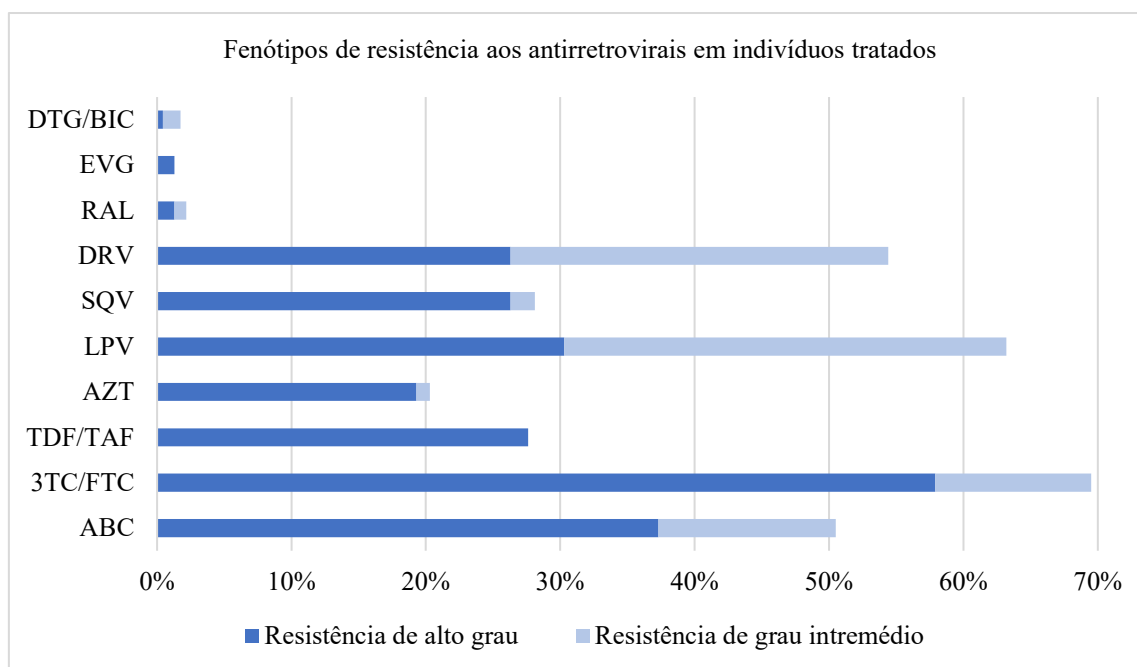


Gráfico 8 - Fenótipos de resistência aos antirretrovirais utilizados para o tratamento da infecção por VIH-2 em indivíduos tratados.

Nos NRTI sabe-se que para a Lamivudina (3TC) e Emtricitabina (FTC), 57,9% (n=132) dos indivíduos apresentam resistência de alto grau e 11,6% (n=35) resistência de grau intermédio para estes fármacos. Sabe-se ainda que 37,3% (n=85) dos indivíduos apresentam resistência de alto grau e 13,2% (n=30) apresentam resistência de grau intermédio ao Abacavir (ABC), enquanto que para a Zidovudina (AZT) a resistência de alto grau está presente em 19,3% (n=44) dos indivíduos e a resistência de grau intermédio em 1,0% (n=3) dos indivíduos. Para o Tenofovir (TDF) e o Tenofovir alafenamida (TAF) os indivíduos estudados apresentam apenas resistência de alto grau (27,6%, n=105). Nos PI, o Lopinavir (LPV) é o fármaco para o qual maior percentagem de indivíduos apresenta resistência de alto grau (30,3%, n=69) e de grau intermédio (32,9%, n=75). Para Saquinavir (SQV) e o Darunavir (DRV) a resistência de alto grau está presente em 26,3% (n=60) dos indivíduos. Enquanto que 1,8% (n=4) e 28,1% (n=64) dos indivíduos apresentam resistência de grau intermédio a estes fármacos, respetivamente. Os INSTI são a classe para a qual a percentagem de indivíduos com resistência é mais baixa. Nesta, a resistência de alto grau e grau intermédio ao Raltegravir (RAL) está presente em 1,3% (n=3) e em 0,9% (n=2) dos indivíduos, respetivamente. A resistência de alto grau ao Dolutegravir (DTG) e ao Bictegravir (BIC) está presente em 0,4% (n=1) e 1,3% (n=3) dos indivíduos apresenta resistência de grau intermédio a estes fármacos. Para o

Elvitegravir (EVG) está presente apenas resistência de alto grau em 1,3% (n=3) dos indivíduos estudados (gráfico 8).

Capítulo V – Discussão dos resultados

Com este trabalho pretendeu-se descrever a evolução da resistência transmitida e adquirida aos antirretrovirais utilizados no tratamento da infeção por VIH-2, entre 1996 e 2019 em Portugal.

A população global era constituída por 2083 indivíduos dos quais 1165 (55,9%) eram do sexo feminino e 879 (42,2%) eram do sexo masculino, o que se encontra de acordo com os dados oficiais de Portugal relativos ao ano de 2018, que afirmam que o diagnóstico da infeção por VIH-2 ocorre principalmente em mulheres (51,8%) (Direção-Geral da Saúde & Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2019). Um estudo realizado em França apresentou dados semelhantes ao nosso, uma vez que 60% de indivíduos incluídos nestes estudo eram do sexo feminino (Charpentier et al., 2013). No entanto, um estudo realizado num cohort belga e luxemburguês incluía apenas 48,5% de indivíduos do sexo feminino (Ruelle et al., 2008).

A mediana de idade obtida à data do teste de resistência aos antirretrovirais foi de 51 anos para os indivíduos não-tratados e 49 anos para os indivíduos tratados. O estudo de Ruelle et al., (2008) obteve uma mediana de 42 anos para os indivíduos infetados com VIH-2, mas neste foi considerado como comparação o ano em que o estudo foi realizado (2006), e no estudo de Charpentier et al., (2013), a idade foi calculada tendo em conta a data de diagnóstico tendo sido obtida uma mediana de 42 anos o que parece plausível, uma vez que o diagnóstico desta infeção ocorre normalmente anos antes da realização do teste de resistência aos antirretrovirais para início da terapêutica. Quanto à idade, observou-se ainda que o grupo etário que apresenta maior número de indivíduos com a infeção por VIH-2 foi o de 46 a 60 anos, o que está de acordo com os dados portugueses que indicam que a maioria das pessoas diagnosticadas com infeção por VIH-2 apresenta 50 ou mais anos de idade (69%) (Direção-Geral da Saúde & Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2019).

No que diz respeito ao país de origem, a maioria dos indivíduos eram originários da Guiné-Bissau (16,9%) contabilizando a população global de 2083 indivíduos. Contabilizando apenas os indivíduos para os quais se conhece a nacionalidade 45,6% (352/771) são originários também deste país, o que é suportado pelos dados do Relatório Infeção de VIH e SIDA em Portugal de 2019, que aponta que 70,8% das pessoas

diagnosticadas com infeção por VIH-2 em Portugal, são originárias deste país da África Ocidental (Direção-Geral da Saúde & Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2019). No global da população observou-se ainda que a maioria dos indivíduos (25,5%) eram originários da região da África Ocidental à semelhança dos resultados obtidos em dois estudos realizados em França e na Bélgica e Luxemburgo (Charpentier et al., 2013; Ruelle et al., 2008). No entanto, a população incluiu também indivíduos originários de países Europeus (Portugal, Reino Unido, Alemanha e Hungria), Sul Americanos (Brasil) e da África Central (República Democrática do Congo).

Em relação ao grupo de VIH-2 responsável pela infeção na população em estudo, observou-se que todos os indivíduos com sequência genómica relativa ao teste de resistência (530) apresentavam infeção pelo grupo A do VIH-2, à semelhança do que foi observado por De Pina-Araujo et al, (2014) num estudo realizado em Cabo Verde. Em contrapartida tanto num estudo realizado em França, como num realizado na Bélgica e Luxemburgo e outro no Gana foram identificados indivíduos infetados por VIH-2 do grupo A e B (Abana et al., 2019; Charpentier et al., 2013; Ruelle et al., 2008), o que está de acordo com a prevalência dos 2 grupos VIH-2 (A e B) em diferentes países da África Ocidental, e que mantêm relações mais estreitas, legado do colonialismo, com os países em questão, como apontado no trabalho de Faria et al., (2018).

No que respeita à contagem de células CD4⁺ e carga viral, foi utilizado o primeiro valor disponível para todos os indivíduos. Quanto à contagem de células CD4⁺ obteve-se uma mediana de 424,5 células/ μ l (86-1430) nos indivíduos não-tratados e 186 células/ μ l (44-2300) nos indivíduos tratados. Dados semelhantes foram obtidos num estudo realizado na Bélgica e Luxemburgo, observando-se uma mediana de contagem de células CD4⁺ de 427 células/ μ l para indivíduos não-tratados e para indivíduos tratados de 226 células/ μ l (Ruelle et al., 2008). Observou-se que a mediana da contagem de células CD4⁺ nos indivíduos tratados era inferior à determinada nos indivíduos não-tratados, o que pode ser justificado pelo facto destes à data do teste selecionado se encontrarem em falência terapêutica ou pela recuperação mais lenta de células CD4⁺ que os indivíduos infetados por VIH-2 apresentam. De acordo com estudos realizados num cohort Europeu e noutra da Costa do Marfim, concluiu-se que, em comparação com a infeção por VIH-1, a recuperação de células CD4⁺ após início do tratamento era mais lenta na infeção por VIH-2 (Minchella et al., 2020; Wittkop et al., 2017). Num estudo realizado no Senegal, os autores observaram que enquanto 76,7% dos participantes a efetuar TARc

conseguiram suprimir a carga viral durante o tempo do estudo, a mediana de recuperação de células CD4+ foi de 84 células/ μ l nos primeiros dois anos de *follow-up* (Raugi et al., 2020). A mediana da carga viral determinada foi de 2,60 log (<1,60-5,28) nos indivíduos não-tratados e 2,37 log (<1,60-5,72) nos indivíduos tratados. No entanto, a carga viral em indivíduos sob tratamento deve ser indetetável, podendo afirmar-se que os indivíduos tratados se encontravam em falência terapêutica. No trabalho de Ruelle et al., (2008) que incluiu 65 indivíduos, dos quais 20 eram indivíduos sob tratamento e no qual a carga viral foi quantificada apenas para estes indivíduos, foi obtida uma mediana entre 3,36 log e 4,21 log. Num estudo realizado no Gana, a carga viral foi quantificada para 6 indivíduos, sem diferenciação entre tratados e não-tratados, tendo sido obtidos valores entre <2,35 log e 5,02 log (Abana et al., 2019).

A prevalência da TDR e ADR e a evolução ao longo do tempo, foram determinadas com base nos 530 indivíduos que possuíam sequência genómica associada ao teste de resistência aos antirretrovirais. Apesar da população global incluir 2083 indivíduos, apenas 25,4% (n=530) apresentavam sequência genómica o que tem que ver com o facto dos indivíduos VIH-2 positivos apresentarem durante anos carga viral indetetável e cargas virais inicialmente baixas, quando detetáveis. Esta particularidade condiciona também o início do tratamento dos mesmos não se aplicando o princípio do tratamento para todos, o qual se verifica para o VIH-1, existindo critérios específicos para o início do tratamento nas *guidelines* portuguesas, já mencionados anteriormente (Guerreiro et al., 2016; Nicolás et al., 2015).

Observou-se uma prevalência global de TDR de 4,0% (IC 95%:2,1-6,8%), que está próxima, embora abaixo dos 5,0% determinados num cohort francês (Charpentier et al., 2013). A ADR global apresentou uma prevalência de 67,1% (IC 95%:60,6-73,2%), não podendo este valor ser comparado com a bibliografia pois uma vez que seja do meu conhecimento, nenhum estudo publicado abordou ainda este parâmetro. Num estudo realizado em Portugal, para a infeção por VIH-1 entre 2001 e 2017, a TDR global apresentou uma prevalência de 9,4% e a ADR global de 69,0% (Pingarilho et al., 2020, em publicação). A ADR global tende a ser semelhante para o VIH-1 e o VIH-2. No que respeita à TDR pode-se esperar que, no caso do VIH-2, esta seja inferior uma vez que as virémias são baixas com consequente transmissão, também mais baixa, da infeção.

Quanto à evolução da resistência ao longo do tempo, observou-se que, no grupo de indivíduos não-tratados, a TDR e a resistência aos NRTI apresentaram um ligeiro

aumento entre 2007 (4,8%) e 2019 (5,3%), enquanto a resistência aos PI apresentou um decréscimo entre 2007 (4,8%) e 2019 (0,0%). Nos indivíduos tratados, e também no período de 2007 a 2019, observou-se que a ADR e a resistência aos NRTI apresentaram um aumento, atingindo uma prevalência de 83,3% em 2019, assim como a resistência aos PI que atingiu uma prevalência de 50% neste mesmo ano. No que respeita à análise estatística dos mesmos resultados, verificou-se que devido ao reduzido número de indivíduos estudados com teste de resistência, nenhuma variável resultou num valor com significância estatística. Globalmente nos indivíduos não-tratados observou-se, segundo os valores de OR, que entre 2007 e 2019 a TDR apresentava uma tendência crescente ao longo do tempo ($p_{\text{tendência}}:0,234$), o que se verifica também para os NRTI ($p_{\text{tendência}}:0,290$) e PI ($p_{\text{tendência}}:0,883$), estando estes dados de acordo com a análise gráfica para a evolução da TDR e resistência aos NRTI, mas não para a resistência aos PI. É de salientar, mais uma vez, que esta discrepância se deve certamente ao reduzido número de indivíduos utilizados para a análise estatística. Nos indivíduos tratados, segundo os valores de OR, a ADR apresentava uma tendência decrescente entre 2007 e 2019 ($p_{\text{tendência}}:0,581$), assim como a resistência aos NRTI ($p_{\text{tendência}}:0,539$). A resistência aos PI apresentou uma tendência quase constante entre 2007 e 2019 ($p_{\text{tendência}}:0,964$). Novamente o número de indivíduos utilizados para fazer a análise estatística foi muito reduzido.

Observando as duas análises (a análise gráfica e a estatística) em paralelo para ambos os grupos de indivíduos e no período de 2007 a 2019, pode formular-se a hipótese de que apesar das discrepâncias associadas aos resultados estes podem ser analisados individualmente. Nos indivíduos não-tratados e para a TDR e resistência aos NRTI, pode perceber-se que, apesar de em 2008, 2010, 2012 e 2018 não existirem quaisquer casos de resistência, entre 2009 e 2015 existe um aumento sucessivo da resistência. Para a TDR apesar do decréscimo observado em 2016 existe ainda um aumento em 2017. Formulando-se assim que a tendência geral tende a ser crescente como determinado na análise estatística. Para a resistência aos PI observa-se que entre 2008 e 2014 existe um aumento e que entre 2014 e 2019 existe um decréscimo, podendo o aumento ser um pouco mais significativo que o decréscimo e daí resultar o valor de OR que aponta para uma tendência ligeiramente crescente. Nos indivíduos tratados a representação gráfica é mais irregular e difícil de avaliar, mas permite formular que a ADR e resistência aos NRTI têm uma evolução tendencialmente constante o que se aproxima da análise estatística que apesar de expressar uma tendência decrescente apresenta valores de OR próximos de 1.

No que respeita à resistência aos PI é possível afirmar que, apesar dos picos observados em 2012, 2014 e 2015, os restantes valores de resistência permitem perceber uma tendência constante o que se encontra de acordo com valor de OR determinado para esta variável. Atualmente, que seja do meu conhecimento, não existem ainda estudos publicados cujo objetivo tenha sido analisar a evolução da resistência adquirida e transmitida na infeção por VIH-2, pelo que os dados obtidos no nosso estudo não possuem comparação podendo, no entanto, fazer-se um paralelismo com a infeção por VIH-1. No estudo português de Pingarilho et al., (2020, em publicação), e referente à infeção por VIH-1, os autores concluíram que entre 2003 e 2017, a TDR aumentou enquanto que a ADR diminuiu. O aumento na TDR deve-se, segundo este estudo, ao aumento da resistência aos NNRTI e NRTI.

Relativamente às mutações associadas a resistência aos antirretrovirais, foram identificadas mutações para os NRTI, PI e INSTI. Nos NRTI, identificaram-se as mutações M184V/I, K65R e Q151M. Nos indivíduos não-tratados a mutação M184V/I foi aquela com maior prevalência, estando presente em 2,3% dos indivíduos, assim como nos indivíduos tratados estando presente em 57,9% dos indivíduos. A mutação K65R teve uma prevalência de 1,3% nos indivíduos não-tratados e 15,4% nos tratados e a mutação Q151M uma prevalência de 1,0% nos indivíduos não-tratados e 18,4% nos tratados. Estas mutações foram também identificadas num estudo realizado na Bélgica e Luxemburgo, estando a M184V presente em 40%, a K65R em 15% e a Q151M em 20% dos indivíduos tratados. Em contrapartida, num estudo realizado no Gana nenhuma mutação foi detetada em indivíduos não tratados, mas dos indivíduos sob tratamento 40% apresentaram as mutações M184, K65R e Y115F (Abana et al., 2019; Ruelle et al., 2008). Observando-se assim que os valores são semelhantes, apesar de mais baixos, que aqueles obtidos no neste estudo. Nos PI foram identificadas as mutações L90M, I54M, I82F, I84V, I50V e V47A, sendo a L90M a mais prevalente. A mutação L90M estava presente em 1,7% dos indivíduos não-tratados e nos tratados 26,3% dos indivíduos apresentaram esta mutação. Um estudo realizado num cohort francês identificou também, em indivíduos não-tratados, a mutação V47A em 3,1% dos indivíduos e a I82F em 1,5% dos indivíduos (Charpentier et al., 2013). Segundo os dados deste estudo, a mutação V47A estava presente em 0,3% e a I82F em 0,7% dos indivíduos não tratados, observando-se que a prevalência é mais baixa do que a identificada no estudo de Charpentier et al., (2013). Neste estudo para os INSTI foram identificadas as mutações E92Q e N155H, estando ambas presentes em

0,9% dos indivíduos tratados. Em indivíduos não-tratados nenhuma mutação associada a resistência aos INSTI foi identificada.

Quanto à suscetibilidade farmacológica, observou-se que os indivíduos não-tratados apresentam maior resistência no que respeita aos NRTI, à 3TC/FTC apresentando 2,3% resistência de alto grau e 1,3% resistência de grau intermédio. Em relação aos PI, estes indivíduos apresentam maior percentagem de resistência ao LPV (2,0% resistência de alto grau e 3,0% resistência de grau intermédio). Quanto aos indivíduos tratados observou-se que os fármacos para os quais os indivíduos apresentam maior percentagem de resistência são a 3TC/FTC nos NRTI (57,9% resistência de alto grau e 11,6% resistência de grau intermédio), o LPV nos PI (30,3% resistência de alto grau e 32,9% resistência de grau intermédio) e o RAL nos INSTI (1,3% resistência de alto grau e 0,9% resistência de grau intermédio). Por não existirem estudos com este tipo de informação sobre o VIH-2 publicados comparou-se os dados obtidos com estudos para o VIH-1. Num estudo realizado em Portugal, num cohort de 5177 indivíduos migrantes infetados por VIH-1, os fármacos para os quais os indivíduos apresentam maior percentagem de resistência são, nos NRTI, a 3TC e a FTC (Pimentel et al., 2020). Segundo Liu et al., (2020), estudo realizado na China, os indivíduos incluídos, VIH-1 positivos, são maioritariamente resistentes, nos NRTI, à 3TC e FTC e, nos PI, ao SQV. Estes dados são concordantes com os obtidos neste trabalho para a classe dos NRTI, mas não para a classe dos PI. Tal pode dever-se ao facto de os indivíduos incluídos neste estudo terem iniciado e realizado tratamento quando o LPV era a opção de primeira linha. Num estudo publicado em 2020 e baseado em dados obtidos numa simulação computacional, para a infeção por VIH-1, os autores concluíram que a resistência aos INSTI não variava muito entre os fármacos desta classe, como também se observou neste trabalho. A percentagem de resistência ao RAL era de 0,41% e ao EVG e DTG de 0,44% (Northrop & Pomeroy, 2020).

1. Limitações do estudo

A caracterização da população infetada por VIH-2 apresenta como limitação o incompleto preenchimento de dados na base de dados RegaDB VIH-2, uma vez que esta é preenchida por profissionais de saúde de diferentes serviços hospitalares. Tal preenchimento nem sempre é adequado ou cuidado, o que leva a que muita informação do doente não seja preenchida, principalmente no caso de doentes que não são seguidos no HEM, CHLO. Os dados que apresentam maior irregularidade são a data de diagnóstico

da infeção, o país de origem, a via de transmissão e a existência ou não de coinfeção com VIH-1.

A determinação do grupo de infeção, a identificação de mutações associadas a resistência aos antirretrovirais, a descrição da evolução das mutações e a suscetibilidade farmacológica são afetadas pela mesma limitação. Estas análises só são possíveis através da existência da sequência genómica do vírus e apresentam como limitação o facto de o teste de resistência aos antirretrovirais só ser efetuado aquando da iniciação da terapêutica. Esta particularidade do VIH-2, ao qual não se aplica o tratamento para todos e por isso não existe sequenciação à data de diagnóstico, não permite uma caracterização de toda a população infetada, sendo o panorama geral do país extrapolado a partir de um reduzido número de infetados que não permite a realização de análises com significância estatística.

2. Perspetivas futuras

Com base nos resultados obtidos e nas limitações estabelecidas acima deve incentivar-se a utilização da base de dados RegaDB VIH-2 de forma a compilar informação sobre esta infeção, incentivando também o correto e mais completo preenchimento desta. O mesmo se aplica a outras bases de dados utilizadas, uma vez que o RegaDB não tem uso transversal em todo o território português. Será também importante a reavaliação dos critérios de genotipagem para o VIH-2 de forma a que estudos futuros possam incluir um maior número de casos existentes.

Estudos desta natureza são atuais e pertinentes devendo ser realizados porque apesar de menos virulento, o VIH-2, tal como o VIH-1, evolui eventualmente para SIDA. No entanto, estes devem abordar uma maior percentagem da população infetada por VIH-2, seguida em Portugal, de forma a ser possível a execução de análises mais fidedignas e informativas sobre o estado real desta infeção no nosso país.

Capítulo VI – Conclusão

Neste estudo observou-se que a ADR global tem uma prevalência de 67,1% e a TDR global de 4,0%, o que é de esperar uma vez que as mutações associadas a resistência aos antirretrovirais surgem devido à pressão farmacológica. A TDR aumentou, devido ao sucessivo aumento entre 2009 e 2014, aumento este que se deve principalmente à tendência de aumento da resistência aos NRTI. A ADR aumentou também, entre 2007 e 2019, principalmente devido ao aumento da resistência aos NRTI, mas também da resistência aos PI.

Apesar dos resultados obtidos, são necessários mais estudos de forma a complementar os dados aqui expostos e ultrapassar as dificuldades encontradas. Estudos futuros deverão incluir uma maior porção da população infetada e procurar obter, junto de clínicos e indivíduos VIH-2 positivos, uma melhor caracterização da população que abrangem.

Referências bibliográficas

- Abana, C. Z., Sagoe, K. W. C., Bonney, E. Y., Maina, E. K., Aziati, I. D., Agbosu, E., ... Karamov, E. (2019). Drug resistance mutations and viral load in human immunodeficiency virus type 2 and dual HIV-1/HIV-2 infected patients in Ghana. *Medicine (United States)*, 98(6), 1–7. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014313>
- Andrake, M. D., & Skalka, A. M. (2015). Retroviral Integrase: Then and Now. *Annual Review of Virology*, 2(1), 241–264. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-055043>
- Arts, E. J., Hazuda, D. J., Bushman, E. F. D., Nabel, G. J., & Swanstrom, R. (2012). HIV-1 Antiretroviral Drug Therapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(a007161), 1–23. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007161>
- Astuti, N., & Maggiolo, F. (2014). Single-Tablet Regimens in HIV Therapy. *Infectious Diseases and Therapy*, 3(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s40121-014-0024-z>
- Audsley, J., Giles, M., & Lewin, S. R. (2017). Lamivudine. In *Kucers the Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs, Seventh Edition*. <https://doi.org/10.1201/9781315152110>
- Azevedo-Pereira, J. M. (2018). Ciclo biológico do VIH. In F. Antunes & F. Maltez (Eds.), *Manual sobre SIDA (5ª Edição)*, pp. 12–20. Permanyer Portugal.
- Bagasra, O., & Pace, D. G. (2008). Reflections on Dr. Montagnier's Nobel Prize for the discovery of HIV-1. *Journal of Infection in Developing Countries*, 2(6), 479–482. <https://doi.org/10.3855/jidc.166>
- Bártolo, I., Borrego, P., Gomes, P., Gonçalves, F., Caixas, U., Pinto, I. V., & Taveira, N. (2018). In vitro evaluation of novel reverse transcriptase inhibitors TAF and OBP-601 against multi-drug resistant primary isolates of HIV-2. *Antiviral Research*. <https://doi.org/10.1016/J.ANTIVIRAL.2018.10.018>
- Bercoff, D. P., Triqueneaux, P., Lambert, C., Oumar, A. A., Ternes, A. M., Dao, S., ... Ruelle, J. (2010). Polymorphisms of HIV-2 integrase and selection of resistance to raltegravir. *Retrovirology*, 7(1), 98. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-7-98>

- Berzow, D., Descamps, D., Obermeier, M., Charpentier, C., Kaiser, R., Guertler, L., ... Camacho, R. (2020). HIV-2: A summary of present standard of care and treatment options for HIV-2 infected individuals living in Western Europe. *Clinical Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa275>
- Bhatti, A. B., Usman, M., & Kandi, V. (2016). Current Scenario of HIV/AIDS, Treatment Options, and Major Challenges with Compliance to Antiretroviral Therapy. *Cureus*, 8(3), 1–12. <https://doi.org/10.7759/cureus.515>
- Blanco, J. L., Whitlock, G., Milinkovic, A., & Moyle, G. (2015). HIV integrase inhibitors: A new era in the treatment of HIV. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 16(9), 1313–1324. <https://doi.org/10.1517/14656566.2015.1044436>
- Cavaco-Silva, J., Abecasis, A., Miranda, A. C., Poças, J., Narciso, J., Aguas, M. J., ... Camacho, R. J. (2014). HIV-2 integrase polymorphisms and longitudinal genotypic analysis of HIV-2 infected patients failing a raltegravir-containing regimen. *PLoS ONE*, 9(3), e92747. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092747>
- Charpentier, C., Camacho, R., Ruelle, J., Eberle, J., Gürtler, L., Pironti, A., ... Obermeier, M. (2015). *HIV-2EU — Supporting Resistance Interpretation in Europe : An Update*. 61, 1346–1347. <https://doi.org/10.1093/cid/civ572>
- Charpentier, C., Visseaux, B., Bénard, A., Peytavin, G., Damond, F., Roy, C., ... the ANRS CO5 HIV-2 Cohort. (2013). Transmitted drug resistance in French HIV-2-infected patients. *AIDS*, 27(10), 1671–1677. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32836207f3>
- Clavel, F., Guetard, D., Brun-Vézinet, F., Chamaret, S., Rey, M., Santos-Ferreira, M. O., ... Montagnier, L. (1986). Isolation of a New Human Retrovirus African Patients with AIDS. *Science (New York, N.Y.)*, 233(June), 343–346.
- Cutrell, J., & Bedimo, R. (2016). *Single-Tablet Regimens in the Treatment of HIV-1 Infection*. (April), 24–30.
- De Clercq, E. (2009). Anti-HIV drugs: 25 compounds approved within 25 years after the discovery of HIV. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(4), 307–320. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.10.010>

- De Pina-Araujo, I. I. M., Guimarães, M. L., Bello, G., Vicente, A. C. P., & Morgado, M. G. (2014). Profile of the HIV epidemic in Cape Verde: Molecular epidemiology and drug resistance mutations among HIV-1 and HIV-2 infected patients from distinct islands of the archipelago. *PLoS ONE*, 9(4).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096201>
- Delelis, O., Carayon, K., Saïb, A., Deprez, E., & Mouscadet, J. F. (2008). Integrase and integration: Biochemical activities of HIV-1 integrase. *Retrovirology*, 5, 1–13.
<https://doi.org/10.1186/1742-4690-5-114>
- Direção-Geral da Saúde, & Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. (2019). *Infeção VIH e SIDA em Portugal-2019*. Retrieved from <http://www.insa.min-saude.pt/relatorio-infecao-vih-e-sida-em-portugal-2019/>
- EMA. (2007). *Epivir® lamivudine*. Retrieved from
https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/epivir-epar-summary-public_en.pdf
- EMA. (2013). *Vitekta (Elvitegravir)*. Retrieved from
https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/vitekta-epar-summary-public_en.pdf
- EMA. (2014). *Prezista® - Darunavir*. 48(482), 0–4. Retrieved from
https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/prezista-epar-summary-public_en.pdf
- EMA. (2017a). *EMTRIVA (Emtricitabine)*. Retrieved from
https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/emtriva-epar-summary-public_en.pdf
- EMA. (2017b). *Isentress (Raltegravir)*. Retrieved from
https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/isentress-epar-medicine-overview_en.pdf
- EMA. (2017c). *Kaletra*. 44(0), 5–7. Retrieved from
https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/kaletra-epar-summary-public_en.pdf
- EMA. (2017d). *TIVICAY (Dolutegravir)*. Retrieved from

https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/tivicay-epar-summary-public_en.pdf

EMA. (2017e). *Vemlidy (tenofovir alafenamide) [Bula]*. Retrieved from https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/vemlidy-epar-summary-public_en.pdf

EMA. (2017f). *Ziagen (Abacavir)*. Retrieved from https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/ziagen-epar-summary-public_en.pdf

EMA. (2018a). *Invirase (saquinavir) An overview of Invirase and why it is authorised in the EU*. 44(0), 0–2. Retrieved from https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/invirase-epar-summary-public_en.pdf

EMA. (2018b). *Viread (Tenofovir)*. Retrieved from https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/tenofovir-disoproxil-mylan-epar-summary-public_pt.pdf

Engelman, A. N. (2019). Multifaceted HIV integrase functionalities and therapeutic strategies for their inhibition. *Journal of Biological Chemistry*, 294(41), 15137–15157. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.006901>

European AIDS Clinical Society. (2019). *EACS Guidelines 10.0*. 1–123. Retrieved from <https://www.eacsociety.org/files/guidelines-10.0-portuguese.pdf>

Fanales-Belasio, E., Raimondo, M., Suligoj, B., & Buttò, S. (2010). HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanità*, 46(1), 5–14. <https://doi.org/10.4415/ANN>

Faria, N. R., Esbjörnsson, J., & Lemey, P. (2018). Phylogeographic Insights into the Origins and Epidemic History of the Human Immunodeficiency Virus Type 2. *Encyclopedia of AIDS*, (October), 1–9. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7101-5>

Fernández-Ortega, C., Ramírez, A., Casillas, D., Paneque, T., Ubieta, R., Dubed, M., ... Betancourt, L. (2016). Identification of Vimentin as a Potential Therapeutic Target against HIV Infection. *Viruses*, 8(6), 1–19. <https://doi.org/10.3390/v8060098>

Gallo, R. C., & Montagnier, L. (2003). The Discovery of HIV as the Cause of AIDS.

- New England Journal of Medicine*, 349(24), 2283–2285.
<https://doi.org/10.1056/nejmp038194>
- German Advisory Committee Blood (Arbeitskreis Blut), S. ‘Assessment of P., & Blood’, T. by. (2016). *Human Immunodeficiency Virus (HIV)*. 203–222.
<https://doi.org/10.1159/000445852>
- Gibson, A. K., Shah, B. M., Nambiar, P. H., & Schafer, J. J. (2016). Tenofovir Alafenamide: A Review of Its Use in the Treatment of HIV-1 Infection. *Annals of Pharmacotherapy*, 50(11), 942–952. <https://doi.org/10.1177/1060028016660812>
- Gottlieb, G. S., Raugi, D. N., & Smith, R. A. (2018). 90-90-90 for HIV-2? Ending the HIV-2 epidemic by enhancing care and clinical management of patients infected with HIV-2. In *The Lancet HIV* (Vol. 5). [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(18\)30094-8](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(18)30094-8)
- Grande, F., Ioele, G., Occhiuzzi, M. A., De Luca, M., Mazzotta, E., Ragno, G., ... Muzzalupo, R. (2019). Reverse transcriptase inhibitors nanosystems designed for drug stability and controlled delivery. *Pharmaceutics*, 11(5), 1–26.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11050197>
- Guerreiro, C., Aldir, I., Oliveira, J., Mansinho, K., Marques, L., Doroana, M., ... Branco, T. (2016). *Recomendações Portuguesas para o tratamento da infeção por VIH-1 e VIH- 2*. 1–46.
- Günthard, H. F., Calvez, V., Paredes, R., Pillay, D., Shafer, R. W., Wensing, A. M., ... Richman, D. D. (2019). Human Immunodeficiency Virus Drug Resistance: 2018 Recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. *Clinical Infectious Diseases*, 68(2), 177–187. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy463>
- Hightower, M., & Kallas, E. (2003). Diagnosis, Antiretroviral Therapy, and Emergence of Resistance to Antiretroviral Agents in HIV-2 Infection: a Review. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 7(1), 7–15. <https://doi.org/S1413-86702003000100002> [pii]
- Hill, A., Hughes, S. L., Gotham, D., & Pozniak, A. L. (2018). Tenofovir alafenamide versus tenofovir disoproxil fumarate: is there a true difference in efficacy and safety? *Journal of Virus Eradication*, 4(2), 72–79. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29682298> <http://www.pubmedcentral.ni>

h.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5892670

- Holec, A. D., Mandal, S., Prathipati, P. K., & Destache, C. J. (2017). Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors: A Thorough Review, Present Status and Future Perspective as HIV Therapeutics. *Current HIV Research*, 15(6), 411–421. <https://doi.org/10.2174/1570162x15666171120110145>
- Ibe, S., & Sugiura, W. (2011). Clinical significance of HIV reverse-transcriptase inhibitor-resistance mutations. *Future Microbiology*, 6(3), 295–315. <https://doi.org/10.2217/fmb.11.7>
- ICTV. (2018). ICTV 9th Report. Retrieved April 18, 2020, from https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/reverse-transcribing-dna-and-rna-viruses-2011/w/rt_viruses/161/retroviridae
- Kassi, M., & Kasi, P. M. (2005). Prospective HLA-BM5701 screening and abacavir hypersensitivity: a single centre experience. *Tropical Doctor*, 35(1), 50–58. <https://doi.org/10.1258/0049475053001804>
- Libin, P., Beheydt, G., Deforche, K., Imbrechts, S., Ferreira, F., Van Laethem, K., ... Vandamme, A.-M. (2013). RegaDB: community-driven data management and analysis for infectious diseases. *Bioinformatics*, 29(11), 1477–1480. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt162>
- Liu, P., Xing, H., Liao, L., Feng, Y., Leng, X., Wang, J., ... Shao, Y. (2020). HIV drug resistance in patients in China's national HIV treatment programme who have been on first-line ART for at least 9 months. *AIDS Research and Therapy*, 17(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12981-020-00264-5>
- Llibre, J. M., Pulido, F., García, F., García Deltoro, M., Blanco, J. L., & Delgado, R. (2015). Genetic barrier to resistance for dolutegravir. *AIDS Reviews*, 17(1), 56–64.
- Maartens, G., Celum, C., & Lewin, S. R. (2014). HIV infection: Epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *The Lancet*, 384(9939), 258–271. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60164-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60164-1)
- Mallolas, J. (2017). Darunavir Stands Up as Preferred HIV Protease Inhibitor. *AIDS Reviews*, 19(2), 105–112.
- Marchant, D., Neil, S. J. D., & McKnight, Á. (2006). Human immunodeficiency virus

- types 1 and 2 have different replication kinetics in human primary macrophage culture. *Journal of General Virology*, 87(2), 411–418.
<https://doi.org/10.1099/vir.0.81391-0>
- Markham, A. (2018). Bictegravir: First Global Approval. *Drugs*, 78(5), 601–606.
<https://doi.org/10.1007/s40265-018-0896-4>
- Masho, S. W., Wang, C. L., & Nixon, D. E. (2007). Review of tenofovir-emtricitabine. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 3(6), 1097–1104.
- Mbisa, J. L., Martin, S. A., & Cane, P. A. (2011). Patterns of resistance development with integrase inhibitors in HIV. *Infection and Drug Resistance*, 4(1), 65–76.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S7775>
- Mcleod, G. X., & Hammer, S. M. (1992). Zidovudine : Five Years Later. *American Ollege of Physicians*, 117(6), 487–501.
- Menéndez-Arias, L., & Álvarez, M. (2014, February). Antiretroviral therapy and drug resistance in human immunodeficiency virus type 2 infection. *Antiviral Research*, Vol. 102, pp. 70–86. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.12.001>
- Mesplède, T., & Wainberg, M. A. (2015). Resistance against integrase strand transfer inhibitors and relevance to HIV persistence. *Viruses*, 7(7), 3703–3718.
<https://doi.org/10.3390/v7072790>
- Métifiot, M., Marchand, C., Maddali, K., & Pommier, Y. (2010). Resistance to Integrase Inhibitors. *Viruses*, 2(7), 1347–1367. <https://doi.org/10.3390/v2071347>
- Minchella, P. A., Adjé-Touré, C., Zhang, G., Tehe, A., Hedje, J., Rottinghaus, E. R., ... Nkengasong, J. N. (2020). Long-term immunological responses to treatment among HIV-2 patients in Côte d’Ivoire. *BMC Infectious Diseases*, 20(1), 1–7.
<https://doi.org/10.1186/s12879-020-4927-x>
- Nicolás, D., Ambrosioni, J., Paredes, R., Marcos, M. Á., Manzardo, C., Moreno, A., & Miró, J. M. (2015). Infection with human retroviruses other than HIV-1: HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 and HTLV-4. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 13(8), 947–963. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1056157>
- Nisole, S., & Saïb, A. (2004). Early steps of retrovirus replicative cycle. *Retrovirology*, 1, 1–20. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-1-9>

- Northrop, A. J., & Pomeroy, L. W. (2020). Forecasting Prevalence of HIV-1 Integrase Strand Transfer Inhibitor (INSTI) Drug Resistance: A Modeling Study. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 83(1), 65–71.
<https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000002212>
- Park, T. E., Mohamed, A., Kalabalik, J., & Sharma, R. (2015). Review of integrase strand transfer inhibitors for the treatment of human immunodeficiency virus infection. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 13(10), 1195–1212.
<https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1075393>
- Peeters, M., Jung, M., & Ayouba, A. (2013). The origin and molecular epidemiology of HIV. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 11(9), 885–896.
<https://doi.org/10.1586/14787210.2013.825443>
- Pereira, J. M. A., & Costa, Q. S. (2016). HIV Interaction With Human Host : HIV-2 As a Model of a Less Virulent Infection. *Aids Reviews*, 18, 44–53.
- Pimentel, V., Pingarilho, M., Alves, D., Diogo, I., Fernandes, S., Miranda, M., ... Abecasis, A. (2020). Molecular epidemiology of hiv-1 infected migrants followed up in Portugal: Trends between 2001-2017. *Viruses*, 12(3), 1–15.
<https://doi.org/10.3390/v12030268>
- Pingarilho, M., Pimentel, V., Diogo, I., Fernandes, S., Miranda, M., Andrea Pineda-Pena, P. L., ... Abecasis, A. (n.d.). *Trends of HIV-1 TDR and ADR in Portugal*.
- Post, K., Guo, J., Howard, K. J., Powell, M. D., Miller, J. T., Hizi, A., ... Levin, J. G. (2003). Human Immunodeficiency Virus Type 2 Reverse Transcriptase Activity in Model Systems That Mimic Steps in Reverse Transcription. *Journal of Virology*, 77(13), 7623–7634. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.13.7623-7634.2003>
- Poveda, E., Rodes, B., Toro, C., & Soriano, V. (2004). Are fusion inhibitors active against all HIV variants? *AIDS Research and Human Retroviruses*, 20(3), 347–348. <https://doi.org/10.1089/088922204322996590>
- Raugi, D. N., Ba, S., Cisse, O., Diallo, K., Tito, I., Tamba, ... Gottlieb, G. S. (2020). Long-term experience and outcomes of programmatic antiretroviral therapy for HIV-2 infection in Senegal, West Africa. *Clinical Infectious Diseases*.
<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa277>




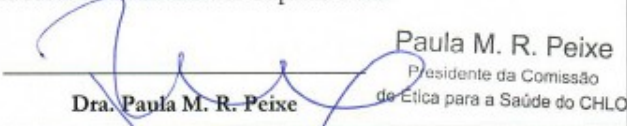
- Raugi, D. N., Smith, R. A., & Gottlieb, G. S. (2016). Four Amino Acid Changes in HIV-2 Protease Confer Class-Wide Sensitivity to Protease Inhibitors. *Journal of Virology*, *90*(2), 1062–1069. <https://doi.org/10.1128/JVI.01772-15>
- Reeves, J. D., & Doms, R. W. (2002). Human immunodeficiency virus type 2 Vpx-Gag interaction. *Journal of Virology*, *72*(6), 5271–5275. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9573303><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC110118>
- Ren, J., & Stammers, D. K. (2008). Structural basis for drug resistance mechanisms for non-nucleoside inhibitors of HIV reverse transcriptase. *Virus Research*, *134*(1–2), 157–170. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.12.018>
- Ribera, E., Tuset, M., Martín, M., & Del Cacho, E. (2011). Characteristics of antiretroviral drugs. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *29*(5), 362–391. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.02.004>
- Rodríguez-Nóvoa, S., García-Gascó, P., Blanco, F., González-Pardo, G., Castellares, C., Moreno, V., ... Soriano, V. (2007). Value of the HLA-B*5701 allele to predict abacavir hypersensitivity in Spaniards. *AIDS Research and Human Retroviruses*, *23*(11), 1374–1376. <https://doi.org/10.1089/aid.2006.0244>
- Roquebert, B., Damond, F., Collin, G., Matheron, S., Peytavin, G., Bénard, A., ... Descamps, D. (2008). HIV-2 integrase gene polymorphism and phenotypic susceptibility of HIV-2 clinical isolates to the integrase inhibitors raltegravir and elvitegravir in vitro. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *62*(5), 914–920. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn335>
- Ruelle, J., Roman, F., Vandenbroucke, A. T., Lambert, C., Fransen, K., Echahidi, F., ... Goubau, P. (2008). Transmitted drug resistance, selection of resistance mutations and moderate antiretroviral efficacy in HIV-2: Analysis of the HIV-2 Belgium and Luxembourg database. *BMC Infectious Diseases*, *8*, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-8-21>
- Schmid, S. (2018). The discovery of HIV-1. *Nature Communications*, *4*. Retrieved from www.nature.com/collections/hiv-milestone
- Simon, V., Ho, D. D., & Karim, Q. A. (2006). Seminar HIV / AIDS epidemiology , pathogenesis , prevention , and treatment. *Science*, *368*(9534), 489–504. Retrieved

from http://ac.els-cdn.com/S0140673606691575/1-s2.0-S0140673606691575-main.pdf?_tid=73556fba-fefe-11e5-91e3-00000aab0f6b&acdnat=1460280631_b48fc461d14c43bfa3381b19edf104a2

- Tie, Y., Wang, Y. F., Boross, P. I., Chiu, T. Y., Ghosh, A. K., Tozser, J., ... Weber, I. T. (2012). Critical differences in HIV-1 and HIV-2 protease specificity for clinical inhibitors. *Protein Science*, 21(3), 339–350. <https://doi.org/10.1002/pro.2019>
- Vella, S., Schwartländer, B., Sow, S. P., Eholie, S. P., & Murphy, R. L. (2012). The history of antiretroviral therapy and of its implementation in resource-limited areas of the world. *Aids*, 26(10), 1231–1241. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32835521a3>
- Visseaux, B., Damond, F., Matheron, S., Descamps, D., & Charpentier, C. (2016). Infection , Genetics and Evolution Hiv-2 molecular epidemiology. *MEEGID*, 1905. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.08.010>
- Wang, Y., Lv, Z., & Chu, Y. (2015). HIV protease inhibitors: a review of molecular selectivity and toxicity. *HIV/AIDS - Research and Palliative Care*, 7, 95. <https://doi.org/10.2147/HIV.S79956>
- Wittkop, L., Arsandaux, J., Trevino, A., van der Loeff, M. S., Anderson, J., van Sighem, A., ... Wyss, N. (2017). CD4 cell count response to first-line combination ART in HIV-2+ patients compared with HIV-1+ patients: A multinational, multicohort European study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(10), 2869–2878. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx210>
- Wittkop, L., Günthard, H. F., Wolf, F. de, Dunn, D., Alessandro Cozzi-Lepri, A. de L., Kücherer, C., ... Chêne, G. (2011). *Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study*. 1–9. Retrieved from <papers://78f07173-a9a3-4797-8921-4ef25921f886/Paper/p425>
- Zhang, X. (2018). Anti-retroviral drugs: current state and development in the next decade. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 8(2), 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2018.01.012>

Anexos

Anexo I – Parecer favorável da Comissão de Ética para a Saúde.

  
CES Comissão de Ética para a Saúde N.º Registo no RNEC: 20170700050
PARECER
Projeto de Investigação, Título: “PTHIV-2: Caracterização da população de indivíduos infetados com HIV-2 seguidos em hospitais portugueses” Investigadora Principal no CHLO: Prof.ª Doutora Perpétua Gomes (Responsável pelo Laboratório de Biologia Molecular, do Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental – HEM) Investigadora Principal, externa ao CHLO: Doutora Ana Abecasis (Diretora do Departamento de Saúde Pública Internacional e Bioestatística, do Instituto de Higiene e Medicina Tropical – UNL) Serviço no CHLO onde decorrerá o estudo: Laboratório de Biologia Molecular do CHLO
Após reunião de 27 de abril de 2020 e no seguimento da receção das informações solicitadas, estando atualmente o estudo de acordo com as normas de submissão impostas por esta CES, deliberou-se emitir parecer favorável à realização do mesmo, com dispensa de consentimento livre e esclarecido, aceitando a justificação apresentada pelas Investigadoras e, com base na Deliberação n.º 1704/2015 da CNPD e de acordo com a Legislação em vigor (Leis n.º 58 e 59/2019; e, RGPD), autorizando o tratamento de dados pessoais por se concluir que o mesmo é justificado para a “satisfação de <u>interesse público</u> importante e imediato”.
A Comissão de Ética para a Saúde solicita às Investigadoras Principais que, quando da conclusão deste estudo, lhe seja enviada uma síntese dos resultados e conclusões do mesmo.
Ouvido o Relator, o processo foi votado pelos Membros da Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental presentes em reunião de 27 de abril de 2020: Presidente: Dra. Paula M. R. Peixe Dra. Lucília Carvalho, Dr. Carlos Neves, Enf.ª Clara Carvalho, Dra. Helena Farinha, Pe. João Valente e Dr. Rui Campante Teles
Pelo exposto, emitiu-se a 18 de maio de 2020, parecer favorável . Presidente da Comissão de Ética para a Saúde
 Dra. Paula M. R. Peixe Presidente da Comissão de Ética para a Saúde do CHLO
<small>Comissão de Ética para a Saúde do CHLO – Hospital de Egas Moniz Morada: Rua da Junqueira, 126 – 1349-019 Lisboa Telefone: 210432655 Correio eletrónico: anavalho@chlo.min-saude.pt presidentec@chlo.min-saude.pt Website: http://www.chlo.min-saude.pt/index.php/centro-hospitalar/organos-de-gestao/comissoes</small>

Anexo II – Formulações de Inibidores Nucleósidos/Nucleótidos da Transcriptase Reversa existentes em Portugal, (Fonte: Infomed, consultado a 29/08/2019).

	Nome do medicamento	Genérico	
Lamivudina + Abacavir	Abacavir + Lamivudina Aurovitas 600mg + 300mg	Sim	
	Abacavir + Lamivudina Aurovitas 600mg + 300mg		
	Abacavir + Lamivudina Mylan		
	Abacavir + Lamivudina Mylan Pharma 600mg + 300mg		
	Abacavir + Lamivudina Sandoz 600mg + 300mg		
	Abacavir + Lamivudina Teva 600mg + 300mg		
	Abacavir + Lamivudina Zentiva 600mg + 300mg		
	Kivexa (Abacavir + Lamivudina) 600mg + 300mg		Não
Lamivudina	Trizivir (Abacavir + Lamivudina + Zidovudina) 300 mg + 150 mg + 300 mg	Não	
	Epivir 150mg, 300mg e 10mg/ml (solução oral)		
	Lamivudina Aurobindo 150mg e 300mg	Sim	
	Lamivudina Aurovitas 150mg e 300mg		
	Lamivudina Farmoz 100mg, 150mg e 300mg		
	Lamivudina Mylan 150mg e 300mg		
	Lamivudina Normon 150mg e 300mg		
	Lamivudina Teva 100mg		
	Lamivudina Teva Pharma B.V. 150mg e 300mg		
	Zeffix 100mg e 5mg/ml		Não
	Dovato (Lamivudina + Dolutegravir) 300mg + 50mg		
Abacavir	Abacavir Farmoz 300mg	Sim	
	Abacavir Mylan 300mg		
	Abacavir Sandoz 300mg		
	Ziagen 300mg e 20mg/ml (solução oral)	Não	
Emtricitabina	Emtriva 200mg e 10mg/ml (solução oral)	Não	
	Emtricitabina + Tenofovir Accord 200mg + 245mg		
	Emtricitabina + Tenofovir Krka 200mg + 245mg		
	Emtricitabina + Tenofovir disoproxil disoproxil Krka d.d. 200mg + 245mg		
	Emtricitabina + Tenofovir disoproxil Mylan 200mg + 245mg		
	Emtricitabina + Tenofovir Farmoz 200mg + 245mg		
	Emtricitabina + Tenofovir Sandoz 200mg + 245mg		
	Emtricitabina + Tenofovir Teva 200mg + 245mg		
	Emtricitabina + Tenofovir Zentiva 200mg + 245mg		

Emtricitabina + Tenofovir/Tenofovir alafenamida	Emtricitabina + Tenofovir disoproxil Zentiva 200mg + 245mg	Sim
	Truvada (Emtricitabina + Tenofovir) 200mg + 245mg	Não
	Descovy (Emtricitabina + Tenofovir alafenamida) 200mg + 10mg e 200mg + 25mg	
	Biktarvy (Bictegravir + Emtricitabina + Tenofovir alafenamida) 50mg + 200mg + 25mg	
	Symtuza (Darunavir + Cobicistato + Emtricitabina + Tenofovir alafenamida) 800mg + 150mg + 200mg + 10mg	
	Stribid (Elvitegravir + Cobicistato + Emtricitabina + Tenofovir) 150mg + 150mg + 200mg + 245mg	
	Genvoya (Elvitegravir + Cobicistato + Emtricitabina + Tenofovir alafenamida) 150mg + 150mg + 200mg + 10mg	
Tenofovir e Tenofovir alafenamida	Tenofovir Accord 245mg	Sim
	Tenofovir Aurobindo 123mg, 163mg, 204mg e 245mg	
	Tenofovir Aurovitas 245mg	
	Tenofovir CTTQ 245mg	
	Tenofovir disoproxil Mylan 245mg	
	Tenofovir disoproxil Zentiva 245mg	
	Tenofovir Farmoz 245mg	
	Tenofovir Sandoz 245mg	
	Tenofovir Teva 245mg	
	Viread 123mg, 163mg, 204mg, 245mg e 30mg/g (granulado)	Não
	Vemlidy (Tenofovir alafenamida) 25mg	

Anexo III – Formulações de Inibidores da Protease existentes em Portugal, (Fonte: Infomed, consultado a 13/06/2019).

	Nome do medicamento	Genérico
Darunavir	Darunavir Accord 400, 600 e 800mg	Sim
	Darunavir Krka 400, 600 e 800mg	
	Darunavir Krka d.d. 400, 600 e 800mg	
	Darunavir Mylan 75, 150, 300, 400, 600 e 800mg	
	Darunavir Sandoz 75, 150, 300, 400, 600 e 800mg	
	Darunavir Teva 600 e 800mg	
	Darunavir Zentiva 75, 150, 300, 400, 600 e 800mg	
	Prezista 75, 150, 300, 400, 600 e 800mg	Não
	Prezista 100mg/ml (Suspensão oral)	
	Rezolsta (Darunavir + Cobicistato) 800mg + 150mg	
	Symtuza (Darunavir + Cobicistato + Emtricitabina + Tenofovir alafenamida) 800mg + 150mg + 200mg + 10mg	
Lopinavir	Lopinavir + Ritonavir Mylan 100mg + 25mg e 200mg + 50mg	Sim
	Lopinavir + Ritonavir Farmoz 200mg + 50mg	Não
	Kaletra (Lopinavir + Ritonavir) 100mg + 25mg e 200mg + 50mg	
	Kaletra (Lopinavir + Ritonavir) 80mg/ml + 20mg/ml (Solução oral)	
Saquinavir	Invirase 200mg e 500mg	Não

Anexo IV – Formulações de Inibidores de Transferência de cadeia da Integrase existentes em Portugal, (Fonte: Infomed, consultado a 28/08/2019).

	Nome do medicamento	Genérico
Raltegravir	Isentress (comprimido para mastigar) 25mg, 100mg	Não
	Isentress (comprimido revestido por película) 400mg, 600mg	
	Isentress (granulado para suspensão oral) 100mg	
Elvitegravir	Stribild (Elvitegravir + Cobicistate + Emtricitabina + Tenofovir) 150mg + 150mg + 200mg + 245mg	Não
	Genvoya (Elvitegravir + Cobicistate + Emtricitabina + Tenofovir alafenamida) 150mg + 150mg + 200mg + 10mg	
Dolutegravir	Tivicay 10mg, 25mg e 50mg	Não
	Triumeq (Dolutegravir + Abacavir + Lamivudina) 50mg + 600mg + 300mg	
	Dovato (Dolutegravir + Lamivudina) 50mg + 300mg	
	Juluca (Dolutegravir + Rilpivirina) 50mg + 25mg	
Bictegravir	Biktarvy (Bictegravir + Emtricitabina + Tenofovir alafenamida) 50mg + 200mg + 25mg	Não

Anexo V – Número de indivíduos totais e resistentes entre 2007 e 2019 no grupo dos indivíduos não-tratados.

Ano analisado	Número total de indivíduos	Número de indivíduos resistentes	Número de indivíduos resistentes aos NRTI	Número de indivíduos resistentes aos PI	Número de indivíduos resistentes a uma classe	Número de indivíduos resistentes a duas classes
2007	21	1	1	1	0	1
2008	22	0	0	0	0	0
2009	35	1	1	1	0	1
2010	38	0	0	0	0	0
2011	26	1	0	1	1	0
2012	9	0	0	0	0	0
2013	16	1	1	1	0	1
2014	10	1	1	1	0	1
2015	18	2	2	1	1	1
2016	29	1	1	1	0	1
2017	27	2	1	1	2	0
2018	14	0	0	0	0	0
2019	19	1	1	0	1	0

Anexo VI – Número de indivíduos totais e resistentes entre 1998 e 2019 no grupo dos indivíduos tratados.

Ano analisado	Número total de indivíduos	Número de indivíduos resistentes	Número de indivíduos resistentes aos NRTI	Número de indivíduos resistentes aos PI	Número de indivíduos resistentes a uma classe	Número de indivíduos resistentes a duas classes
1998	3	2	2	1	1	1
1999	16	12	12	4	8	4
2000	8	7	6	5	3	4
2001	6	5	5	3	2	3
2002	6	3	3	2	1	2
2003	6	6	6	1	5	1
2004	1	0	0	0	0	0
2005	3	1	1	0	1	0
2006	20	16	16	11	5	11
2007	17	11	11	6	5	6
2008	24	16	16	12	4	12
2009	17	13	12	8	6	7
2010	13	8	8	4	4	4
2011	8	5	4	2	4	1
2012	9	6	6	6	0	6
2013	12	5	5	3	2	5
2014	15	10	9	9	2	8
2015	9	8	7	7	2	6
2016	12	6	6	4	2	4
2017	6	4	4	2	2	2
2018	9	4	4	2	2	2
2019	6	5	5	3	2	3

